

# 学位論文

## Usefulness of magnifying endoscopy with narrow-band imaging for determining gastric tumor margin

(胃腫瘍の境界診断における narrow-band imaging 併用拡大内視鏡の有用性)

申請者氏名： 清時 秀

所属： 山口大学大学院

医学系研究科応用分子生命科学系専攻

先端分子応用医科学領域 消化器病態内科

平成 22 年 12 月作成

## 目次

1. 要旨	3
2. 研究の背景	3
3. 目的	4
4. 方法	4
5. 結果	6
6. 考察	6
7. 結語	8
8. 参考文献	8

## 1. 要旨

【目的】 Narrow-band imaging 併用拡大内視鏡 (ME-NBI) は、早期胃癌の境界診断に有用であるとされるが、従来の境界診断法と比べどの程度有用であるかは明らかではない。われわれは、インジゴカルミン色素内視鏡 (ICC) と比べて、ME-NBI による胃腫瘍境界診断の有用性を評価した。

【方法】 胃腫瘍に対して内視鏡的粘膜下層剥離術 (ESD) を行う患者 110 人 118 病変を対象となった。まず ESD を行う前に、ランダムに ME-NBI 群と ICC 群にわけた。ME-NBI 群では、NBI 拡大観察を用いて、ICC 群ではインジゴカルミン色素内視鏡法を用いて胃腫瘍の境界診断を行った。それぞれの観察法により決定した胃腫瘍と非腫瘍粘膜の境界に、高周波スネアの先端をもちいて 1 ヶ所あるいは 2 ヶ所にマーキングを行った。その後通常通り ESD を行い、病変を切除した。固定された切除標本は、腫瘍境界においたマーキングを通るように切り出した。腫瘍・非腫瘍部の境界と、マーキングの距離を組織学的に検討し、その距離が 1mm 以内であれば正診とした。

【成績】 118 病変は、ME-NBI 群は 55 病変、ICC 群は 63 病変にランダムに分けられた。組織学的にマーキングと腫瘍・非腫瘍の距離が測定できなかったため、ME-NBI 群では 17 病変、ICC 群では 18 病変が除外され、ME-NBI 群 38 病変、ICC 群 45 病変が評価の対象となった。ME-NBI 群での境界診断正診率は 97.4% (37/38)、ICC 群のものは 77.8% (35/45) であり、ME-NBI 群のほうが有意に優れていた。ME-NBI 群での誤診例は、立ち上がりが緩やかで、血管異型の乏しい胃腺腫であった。ICC 群での誤診例は、腫瘍周囲の胃炎の変化により、境界診断が困難なものが多かった。

【結論】 ME-NBI は、ICC より明瞭に腫瘍の境界を診断できた。

## 2. 研究の背景

胃腫瘍に対する内視鏡治療は、侵襲の少ない治療法として発展してきている。特に、内視鏡的粘膜下層剥離術 (Endoscopic submucosal dissection: ESD) は、任意の切除ラインを決定することで、従来の内視鏡的粘膜切除術 (Endoscopic mucosal resection: EMR) では困難であった大きいサイズの病変も、十分な safety margin をもって、一括切除が可能である [1-7]。しかしながら、術前の内視鏡検査で、腫瘍の境界を正確に診断できなければ、切除範囲を誤って不完全切除となり、局所再発が生じる可能性がある [5,8]。

胃癌における拡大内視鏡観察では、その粘膜構造や血管構造が、良悪性の判定や組織型の診断に有用であることが報告されている [9-13]。Narrow-band

imaging (NBI) system は、狭帯域化した 415nm と 540nm の波長光を用いることで表層粘膜構造と微細血管構造を強調して描出できる新しい画像診断システムであるが[14]、このシステムと拡大機能を併用させることで、粘膜構造や微細血管構造のより詳細な診断が可能である[13]。NBI 併用拡大内視鏡は、胃癌の境界診断能を向上させ、ESD の根治率 cure rate をあげる可能性があるが[15]、従来行われてきた色素内視鏡法と比べ、どの程度腫瘍の境界診断に有用であるかは、いまだ不明である。

### 3. 目的

我々は、ESD を行う胃腫瘍において、NBI 併用拡大内視鏡による境界診断が、インジゴカルミン色素内視鏡 (Indigocarmine chromoendoscopy: ICC) と比べどの程度有用なのか、比較検討をおこなった。

### 4. 方法

#### 対象患者

2007 年 4 月から 2008 年 12 月までの間で、山口大学医学部附属病院において胃腫瘍 (分化型胃癌、胃腺腫) に対し ESD を行われた患者 110 人 (男性 78 人、女性 32 人、平均年齢 $\pm$ SD : 70.5 $\pm$ 8.5 歳)、118 病変を対象とした。内視鏡治療の適応となる病変は、粘膜内にとどまると思われる分化型癌と、1cm 以上の腺腫とした。

治療前に対象病変は、NBI 併用拡大観察を行う群 (ME-NBI 群) と、インジゴカルミンによる色素内視鏡観察を行う群 (ICC 群) とに無作為割り付けが行われた。この研究は、患者にインフォームドコンセントを行い、文書により、患者本人の承諾を得て行った。

#### 腫瘍の境界診断方法

本研究において使用した内視鏡は、NBI 拡大観察時には GIF-H260Z (Olympus Corp., Tokyo, Japan) を、色素内視鏡観察においては同スコープを、拡大機能を使用せずに用いた。光源は CV-260SL (Olympus) を使用した。腫瘍の境界のマーキングおよび内視鏡治療は、日本消化器内視鏡専門医の資格をもつ 2 人の内視鏡医 (J. N. and T. O.) が行った。

ME-NBI 群においては、まず腫瘍をよく水洗後、通常白色光で観察し、その後 NBI モードで腫瘍を 80 倍で拡大観察した。腫瘍と非腫瘍の境界は、腫瘍部の不整な粘膜構造と微小血管を同定し、それらと周囲の正常粘膜パターンとの境

(Demarcation line) [9-11]とした(図1a).

ICC群における腫瘍と非腫瘍の境界の診断は、腫瘍をよく水洗し、通常白色光で観察後、鉗子孔より直接0.1%インジゴカルミンを胃腫瘍に散布した。インジゴカルミン色素は、腫瘍の粘膜の凹凸や発赤を強調する[16-18]。強調された粘膜の凹凸や色調変化などの所見をもとに、周囲の正常粘膜との境とした(図1b)。

それぞれの観察法により決定した腫瘍の境界に、高周波スネア(SD-5L-1, Olympus)の先端による電気凝固を用いてマーキングを行った(図2a,b)。高周波発生装置はVIO 300D (Erbe Elektromedizin, Tübingen, Germany)を用い、マーキングにはSWIFT COAG, Effect 2, 50Wのモードを用いた。一つ目のマーキングが不明瞭であった場合、2つ目のマーキングを別部位の境界に行った。

ME-NBI群においては、NBIモードに切り替えてからマーキングを終了するまで、ICC群においては、インジゴカルミンを撒布してからマーキングを終了するまでの、時間をそれぞれ計測した。

#### 内視鏡的粘膜下層剥離術

境界にマーキングを行った後、病巣より約5mmはなして周囲にマーキングを行い、ESDを開始した。まずエピネフリン(0.025mg/mL)を混ぜた生理食塩水を粘膜下層へ局注し、周囲のマーキングの外側にニードルナイフ(KI-1L-1, Olympus)を用いてプレカットを行った。プレカット部にinsulation-tipped(IT)ナイフ(KD-611L, Olympus)を挿入し、高周波電流を用いて腫瘍の周囲を切開した。全周切開後、ITナイフにより粘膜下層を剥離した。必要に応じて局注を追加し、腫瘍を完全に切除するまで剥離を続けた。

#### 境界マーキングの病理学的評価

切除した標本は10%ホルマリンにつけ、固定をおこなった。固定後、顕微鏡観察下にマーキングが同定できるようにするため、腫瘍境界につけたマーキングを通るように割をいれた(図2c)。標本には、ヘマトキシリンエオジン(HE)染色を行った。光学顕微鏡(BX41, Olympus)観察下において組織切片上のマーキングを同定した。画像ソフト(DP2-BSW, Olympus)を用いて、マーキングと、腫瘍部・非腫瘍部の境界との距離を測定した。距離が1mm以内であれば正診、1mm以上を誤診した(図2d)。境界マーキングが同定できなかった場合は、判定不能とした。

#### 統計学的評価

我々は、マーキングの正診率と、診断時間に関して、ME-NBI群とICC群を比較した。結果は、Student's t-test,  $\chi^2$  testあるいはFisher's exact probability test

を用いて統計学的に評価した。P 値 0.05 未満を有意な差と判断した。

## 5. 結果

ME-NBI 群は 55 病変, ICC 群は 63 病変にランダムに分けられた。顕微鏡にて、マーキングが同定できなかつたため、ME-NBI 群 17 病変, ICC 群 18 病変が除外された (図 3)。ME-NBI 群 38 例, ICC 群 45 例が本検討の対象となった。それぞれの群における患者、胃腫瘍の特徴に差は認められなかつた (表 1)。ME-NBI 群では 7 病変, ICC 群では 6 病変に、胃腺腫が認められた (P 値=0.739)。ME-NBI 群では、1 か所のマーキングが 18 病巣、2 か所のマーキングが 20 病巣であり、ICC 群ではそれぞれ 23 病巣、22 病巣であった。マーキングの数に、群間に差は見られなかつた (P 値=0.734)。背景粘膜における腸上皮化生は、ほとんどの症例において認められ、これも群間に差は見られなかつた (84.3%と 93.3%, P 値=0.289)。

腫瘍の境界診断の正診率は、ME-NBI 群では 97.4% (37/38)、ICC 群では 77.8% (35/45) であり、統計的に有意差を認めた (P 値=0.009) (表 2)。境界診断の平均時間においては、ME-NBI 群 (138.4 秒) のほうが、ICC 群 (82.7 秒) に比べて、有意に長かつた (P 値<0.001)。

境界診断を誤診した例の胃腫瘍の特徴を表 3 にまとめた。ME-NBI 群の誤診例は、微小血管の不整さがほとんどない、立ち上がりの緩やかな胃腺腫であった (図 4)。ICC 群では、胃炎や腸上皮化生により生じる変化を伴った正常粘膜と、腫瘍を区別することが困難であった (図 5)。誤診例において、マーキングと腫瘍境界との距離は平均 2372  $\mu$ m (1340 - 4202  $\mu$ m) であった。

## 6. 考察

内視鏡的切除法は、リンパ節転移のない早期胃癌に対する、侵襲の少ない優れた治療法である。Japanese Gastric Cancer Association が提唱している胃癌内視鏡治療の適応病変としては、(i) differentiated adenocarcinoma (ii) intramucosal cancer (iii) tumors  $\leq$  20mm in size (iv) tumors without ulceration となっている [19]。ESD の発展により、サイズの大きなものや、潰瘍性変化を伴うもの、未分化型癌などの病巣に、治療の適応が拡大されてきている [20]。しかしながら、内視鏡治療前には、正確な腫瘍の範囲診断が必要不可欠である。従来 of 範囲診断は、インジゴカルミン色素内視鏡法により、腫瘍部の粘膜の凹凸や色調の変化を強調することで行われてきた。われわれは、インジゴカルミン色素内視鏡とくらべ、ME-NBI の境界診断の有用性を評価した。

ME-NBI の腫瘍の境界と、病理組織学的な境界はよく一致していた。ME-NBI は、腫瘍の微小血管や粘膜構造の変化をもとに、腫瘍の境界を診断することができる[9-11,15]。ME-NBI は背景粘膜と腫瘍を容易に区別することが可能であった。一方で ICC は、胃炎や腸上皮化生をともなった粘膜変化と、腫瘍を区別することが困難であった。ME-NBI により、腸上皮化生が Light blue crest(LBC)として観察することができるとの報告があり[21]、それを指標にすれば、ME-NBI は腫瘍周囲に腸上皮化生の変化が強い病巣の範囲診断には有用であると考えられる。

ME-NBI において、誤診例は隆起型の胃腺腫であった。胃腺腫はほとんどが隆起性病変であり、段差の違いをもとに境界診断が可能であることが多い。誤診した病変は、立ち上がり不明瞭で、色調も周囲粘膜と同じものであった(図 4)。胃腺腫の拡大観察では、血管の増生や、血管の口径不同・走行不整の程度は軽度であると報告されている[22]。そのため、ME-NBI では、平坦な胃腺腫は、微小血管や粘膜構造からの境界診断は困難であるかもしれない。胃腺腫の表面には、regular な white opaque substance (WOS)があるとの報告があるが、それが境界診断に有効であるかどうかは言及されていない[23]。

ICC 群は、10 例の誤診例があった。インジゴカルミンは、色素が粘膜に吸収されず、胃小区や粘膜ひだの溝にたまることで、粘膜の凹凸を強調したり、青色の色素が腫瘍の赤色を強調する。この方法は胃腫瘍の範囲を同定するのに有用であるとされるが[16-18]、ほとんど平坦な腫瘍や、同色の病変では、インジゴカルミン色素内視鏡法を用いても腫瘍範囲の同定が難しい例がある。本研究におけるマーキング誤診例を検討すると、インジゴカルミン色素が腫瘍周囲の胃炎や腸上皮化生による粘膜の凹凸も強調し、それにより境界診断が困難となるケースが多かった(図 5)。Iizuka らは、インジゴカルミンに酢酸を混ぜることで、インジゴカルミンよりも胃癌の境界を明瞭にしたと報告した[24]。酢酸を混ぜることで、ICC 群における正診率は向上するかもしれない。

本研究では、ME-NBI 法は、ICC 法よりも境界診断に時間がかかった。ME-NBI 群では、NBI モードで 80 倍まで拡大して観察する必要がある。この方法では、フォーカスを合わせる際に時間がかかることがある。よって、境界のわかりやすい腫瘍は、ICC 法で境界診断をおこなうほうが効率的であるかもしれない。

本研究では、118 病変中 35 病変が除外された。浅いマーキングは、組織学的にはっきり確認できなかった。より鋭く、深くマーキングをつけるには、ニードルナイフ (KD-1L-1, Olympus) のような先端系デバイスを用いるのが良いと思われるが、我々は、ニードルナイフによるマーキングにより、小穿孔をきたした例があるため、マーキングはスネアの先端を用いて行っている。初めのマーキングが浅いか小さかった場合、別部位の腫瘍境界に 2 つ目のマーキングを

行った。しかしながら、2つマーキングを行うことは、正診率をあげる可能性があった。マーキングの数は、両郡で同じであるべきであった。アルゴンプラズマ凝固などで、より安全に、鋭くマークを行えば、判定不能例を少なくすることができたかもしれない。

## 7. 結語

内視鏡治療の適応となる胃腫瘍において、ME-NBIはICCよりも厳密に腫瘍の境界を診断することができた。ICC群では、胃炎や腸上皮化生の粘膜変化と、胃腫瘍の区別が困難であった。

## 8. 参考文献

- 1 Gotoda T, Yamamoto H, Soetikno RM, et al. Endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer. *J Gastroenterol* 2006; **41**: 929-942
- 2 Fujishiro M. Endoscopic submucosal dissection for stomach neoplasms. *World J Gastroenterol* 2006; **12**: 5108-5112
- 3 Hirasaki S, Kanzaki H, Matsubara M, et al. Treatment of over 20 mm gastric cancer by endoscopic submucosal dissection using an insulation-tipped diathermic knife. *World J Gastroenterol* 2007; **13**: 3981-3984
- 4 Takeuchi Y, Uedo N, Iishi H, et al. Endoscopic submucosal dissection with insulated-tip knife for large mucosal early gastric cancer: a feasibility study (with videos). *Gastrointest Endosc* 2007; **66**: 186-193
- 5 Oka S, Tanaka S, Kaneko I, et al. Advantage of endoscopic submucosal dissection compared with EMR for early gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2006; **64**: 877-883
- 6 Watanabe K, Ogata S, Kawazoe S, et al. Clinical outcomes of EMR for gastric tumors: historical pilot evaluation between endoscopic submucosal dissection and

- conventional mucosal resection. *Gastrointest Endosc* 2006; **63**: 776-782
- 7 Shimura T, Sasaki M, Kataoka H, et al. Advantages of endoscopic submucosal dissection over conventional endoscopic mucosal resection. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; **22**: 821-826
  - 8 Takenaka R, Kawahara Y, Okada H, et al. Risk factors associated with local recurrence of early gastric cancers after endoscopic submucosal dissection. *Gastrointest Endosc* 2008; **68**: 887-894
  - 9 Yao K, Yao T, Iwashita A. Determining the horizontal extent of early gastric carcinoma: two modern techniques based on differences in the mucosal microvascular architecture and density between carcinomatous and non-carcinomatous mucosa. *Dig Endosc* 2002; **14**: S83-87
  - 10 Yao K, Iwashita A, Tanabe H, et al. Novel zoom endoscopy technique for diagnosis of small flat gastric cancer: a prospective, blind study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; **5**: 869-878
  - 11 Yao K, Iwashita A, Kikuchi Y, et al. Novel zoom endoscopy technique for visualizing the microvascular architecture in gastric mucosa. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; **3**: S23-26
  - 12 Ohashi A, Niwa Y, Ohmiya N, et al. Quantitative analysis of the microvascular architecture observed on magnification endoscopy in cancerous and benign gastric lesions. *Endoscopy* 2005; **37**: 1215-1219
  - 13 Nakayoshi T, Tajiri H, Matsuda K, et al. Magnifying endoscopy combined with narrow band imaging system for early gastric cancer: correlation of vascular pattern with histopathology (including video). *Endoscopy* 2000; **36**: 1080-1084
  - 14 Gono K, Obi T, Yamaguchi M, et al. Appearance of enhanced tissue features in

- narrow-band endoscopic imaging. *J Biomed Opt* 2004; **9**: 568-577
- 15 Sumiyama K, Kaise M, Nakayoshi T et al. Combined use of a magnifying endoscope with a narrow band imaging system and a multibending endoscope for en bloc EMR of early stage gastric cancer. *Gastrointest Endosc* 2004; **60**: 79-84
  - 16 Tomori A, Oyama T, Takahashi A, et al. Histopathological diagnosis of gastric tumors by magnifying endoscopy [in Japanese]. *Stomach and Intestine* 2007; **42**: 730-734
  - 17 Ida K, Hashimoto Y, Takeda S, et al. Endoscopic diagnosis of gastric cancer with dye scattering. *Am J Gastroenterol* 1975; **63**: 316-320
  - 18 Demirci S, Gohchi A. A comparative study for fiberoptic and video endoscopic determination of the extent in minimal changes of gastric mucosa using indigo dye spraying. *Surg Endosc* 1990; **4**: 80-82
  - 19 Shim CS. Staining in gastrointestinal endoscopy: clinical applications and limitations. *Endoscopy* 1999; **31**: 487-496
  - 20 The Japanese Gastric Cancer Association eds. *Guidelines for gastric cancer treatment* [in Japanese]. 2nd edn. Tokyo: Kanehara; 2004
  - 21 Gotoda T, Yanagisawa A, Sasako M, et al. Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: estimation with a large number of cases at two large centers. *Gastric Cancer* 2000; **3**: 219-225
  - 22 Uedo N, Ishihara R, Lishi H, et al. A new method of diagnosing gastric intestinal metaplasia: narrow-band imaging with magnifying endoscopy. *Endoscopy* 2006; **38**: 819-824
  - 23 Yao K, Iwashita A, Tanabe H, et al. White opaque substance within superficial elevated gastric neoplasia as visualized by magnification endoscopy with

narrow-band imaging: a new optical sign for differentiating between adenoma and carcinoma. *Gastrointest Endosc* 2008; **68**: 574-580

- 24 Iizuka T, Kikuchi D, Hoteya S, et al. The acetic acid + indigocarmine method in the delineation of gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; **23**: 1358-1361

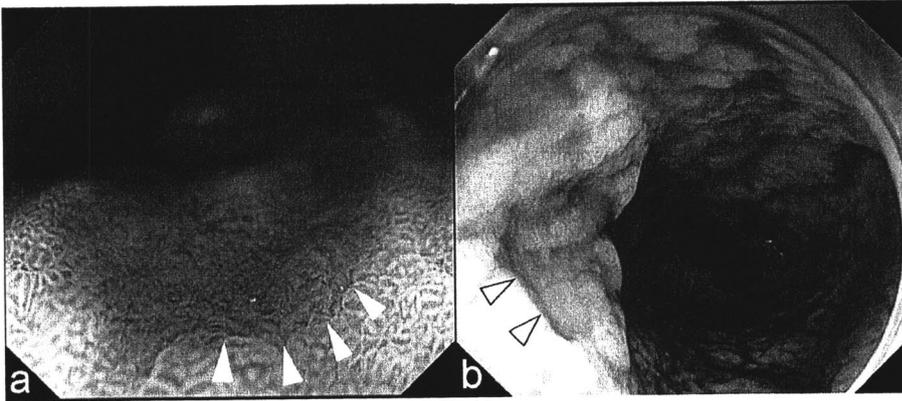


図1 胃腫瘍の境界診断

(a) NBI 併用拡大内視鏡 (ME-NBI) 群. 表面陥凹型胃癌と正常粘膜の間に Demarcation line が認められる (矢印).

(b) インジゴカルミン色素内視鏡 (ICC) 群. インジゴカルミン色素により強調された粘膜の発赤や凹凸不整をもとに, 表面陥凹型胃癌と正常粘膜の間の境界が明瞭となる.

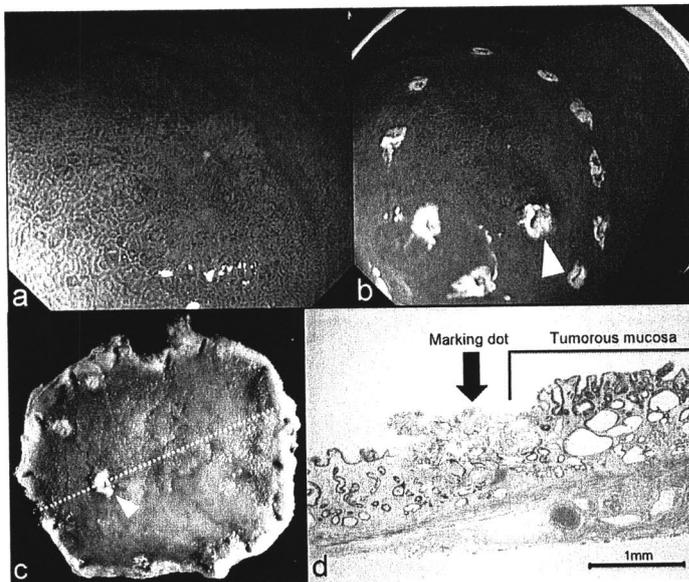


図2 マーキングの付け方と評価方法

(a) それぞれの観察法により腫瘍境界を決定した (図は NBI モード).

(b) 腫瘍境界にマーキングを行った (矢印).

(c) 境界のマーキングが同定できるように割を入れた (矢印).

(d) 光学顕微鏡でマーキングを同定し, マーキングと腫瘍境界の距離を測定した.

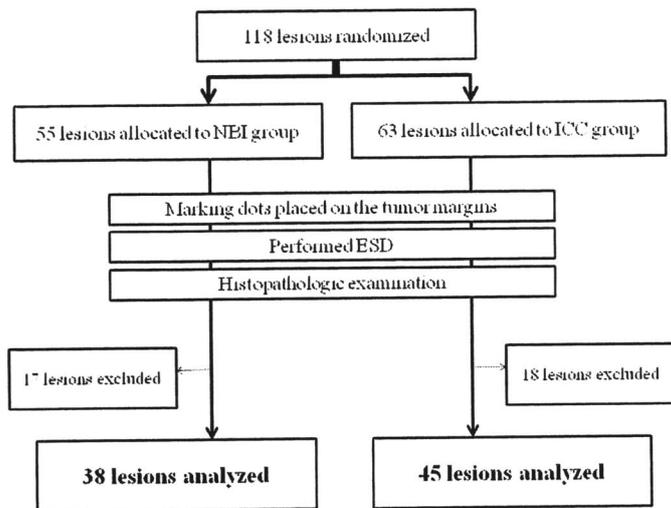


図3 対象患者の選別

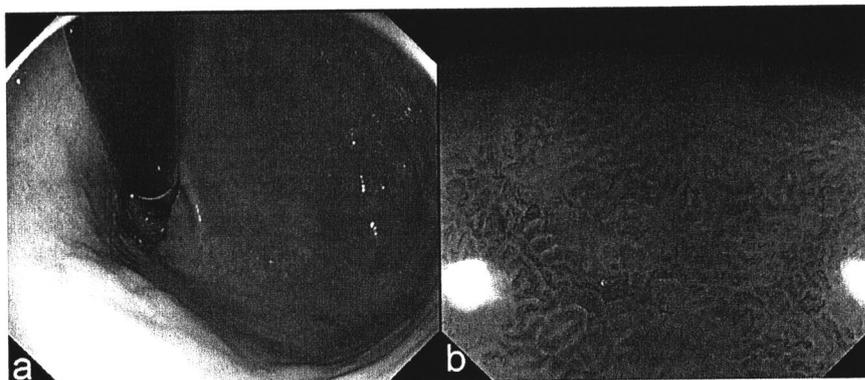


図4 NBI併用拡大内視鏡 (ME-NBI) 群におけるマーキング誤診例  
 (a) 胃体部後壁の胃腺腫の通常光観察  
 (b) ME-NBI では腫瘍と正常粘膜の境界が不明瞭であった。

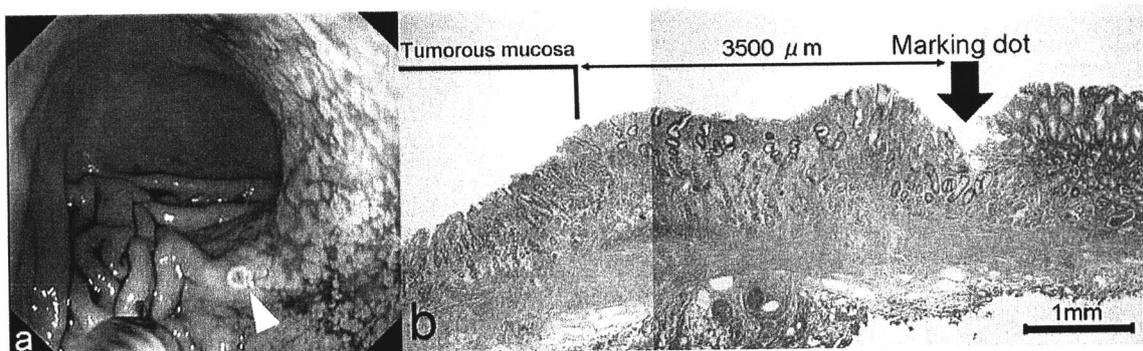


図5 インジゴカルミン色素内視鏡 (ICC) 群におけるマーキング誤診例  
 (a) 体部後壁の陥凹型胃癌のインジゴカルミン散布像. 矢印は境界のマーキング.  
 (b) マーキングと腫瘍境界の距離は 3500 $\mu$ m であった。

表 1 対象患者と病変の特徴

	ME-NBI group	ICC group	<i>P</i> value
<b>Patient characteristics</b>			
No. of patients	37	42	
Mean age (range), years	70.7 (53-90)	69.7 (54-89)	0.576
<b>Sex</b>			
Male	28	29	0.686
Female	9	13	
<b>Clinical features of lesions</b>			
No. of lesions	38	45	
Mean size (range), mm	16.4 (6-46)	17.8 (4-70)	0.546
<b>Location</b>			
Upper	4	2	0.702
Middle	13	20	
Lower	21	23	
<b>Macroscopic type</b>			
Protruding	17	27	0.165
Depressed	21	18	
<b>Histopathologic diagnosis</b>			
Carcinoma	31	39	0.739
Adenoma	7	6	
<b>Depth of invasion</b>			
Mucosa	34	40	0.788
Submucosa	4	5	
<b>Intestinal metaplasia in the background mucosa</b>			
+	32	42	0.289
-	6	3	

ME-NBI, magnifying endoscopy with narrow-band imaging; ICC, indigocarmine chromoendoscopy.

表2 マーキングの正診率と腫瘍境界診断にかかった時間

	ME-NBI group	ICC group	<i>P</i> value
Accurate marking	37	35	
Inaccurate marking	1	10	0.009
Accuracy rate, %	97.4	77.8	
Mean procedure time (range), sec	138.4 (27-200)	82.7 (37-360)	< 0.001

ME-NBI, magnifying endoscopy with narrow-band imaging; ICC, indigocarmine chromoendoscopy.

表3 マーキングを誤診した病変の特徴

Group	Case No.	Sex	Age (y)	Location	Macroscopic type	Histopathologic diagnosis	Depth	Tumor size (mm)	IM	Distance between marking and tumor margin ( $\mu\text{m}$ )
ICC	1	M	54	M	Depressed	Carcinoma	m	30	+	1340
	2	M	74	M	Depressed	Carcinoma	m	24	+	1965
	3	M	67	M	Protruding	Adenoma	m	28	+	3120
	4	M	72	M	Depressed	Carcinoma	m	26	-	1690
	5	M	73	M	Depressed	Carcinoma	m	18	+	3500
	6	M	72	L	Depressed	Carcinoma	m	4	+	2210
	7	F	78	L	Protruding	Carcinoma	m	20	+	4202
	8	F	89	L	Protruding	Carcinoma	m	14	+	2305
	9	M	59	U	Protruding	Carcinoma	sm	23	+	1761
	10	M	59	L	Protruding	Carcinoma	m	14	+	2304
ME-NBI	1	M	69	U	Protruding	Adenoma	m	20	+	1700

ME-NBI, magnifying endoscopy with narrow-band imaging; ICC, indigocarmine chromoendoscopy; U, Upper third of the stomach; M, Middle third of the stomach; L, lower third of the stomach; m, mucosa; sm, submucosa; IM, intestinal metaplasia in the background mucosa.