

東医大誌 53(2): 145~151, 1995

膵・胆管合流異常における胆嚢と 通常胆嚢の癌化過程の比較検討

東京医科大学外科学教室

青木達哉 小柳泰久 土田明彦 伊藤伸一
吉松昭彦 青木利明 小澤隆 多村幸之進
浅見健太郎

Comparative Study of the Carcinogenetic Process between the Gallbladder with Anomalous Arrangement of the Pancreaticobiliary Ductal Union (APD) and the Common Gallbladder

Tatsuya AOKI, Yasuhisa KOYANAGI, Akihiko TSUCHIDA, Shinito ITO,
Akihiko YOSHIMATSU, Toshiaki AOKI, Takashi OZAWA,
Konoshin TAMURA and Kentaro ASAMI

Department of Surgery, Tokyo Medical College

It is well known that the gallbladder (GB) with anomalous arrangement of the pancreaticobiliary ductal union (APD) is frequently associated with cancer. Comparative studies such as an analysis on histopathological features, cell proliferation and gene-product expression between non cancerous GB and GB with cancer was performed to clarify the carcinogenetic process with APD. Five cases (23.8%) with APD were associated with cancer and they were all papillary and/or well differentiated adenocarcinomas. 76.2% of the background mucosa was proper epithelium and 47.6% showed hyperplastic change. There was no significant difference in the Ki-67 proliferating index ($2.3 \pm 0.4\%$ in GB without cancer, $2.9 \pm 1.8\%$ in GB with cancer) and there was no increase of proliferation compared with normal GB mucosa. p53 protein overexpression was recognized in 75.0% of the cases and the staining conditions never differed from those in the cases of GB cancer without APD.

We concluded that GB cancer with APD had no special carcinogenetic process and background mucosal condition, except that their background mucosa obtained stronger changes of hyperplastic mucosa than those in the cases of cancer without APD in this study.

緒 言

膵・胆管合流異常 (以下合流異常: Anomalous Arrangement of the Pancreaticobiliary Ductal

Union ; APD) は、非合流異常症例に比し高頻度に胆道癌を合併する^{1)~5)}。発癌機序について、膵液の逆流に伴う胆道上皮の障害・修復過程の反復が、背景粘膜となる胆嚢・胆管上皮の細胞回転が亢進するた

(1994年10月31日受付, 1994年11月30日受理)

Key words: 膵・胆管合流異常 (Anomalous arrangement of the pancreaticobiliary ductal union), 癌化過程 (Carcinogenetic process), 背景胆嚢粘膜 (Background mucosa of the gallbladder), 細胞増殖能 (Proliferative activity), p53 癌抑制遺伝子産物 (p53 gene-product)

めとの報告⁶⁾があるが、合流異常と胆嚢癌の因果関係は未だ不明な点が多い。そこで、1) 胆嚢粘膜の細胞回転は本当に亢進しているのか？ 2) 合流異常を伴う胆嚢癌の発癌過程は、通常の発癌の過程と異なっているのか？という 2 つの点を明らかにするために、従来の組織形態学的検討に加え、免疫染色による増殖能亢進の程度、および癌抑制遺伝子 p53 の蛋白過剰発現を指標として検討したので、若干の文献的考察を加え報告する。

対象と方法

術前の内視鏡的逆行性膵胆管造影 (Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography: 以下 ERCP) により合流異常が確認され、外科的に摘出された胆嚢 21 例を対象とした。膵・胆管の合流形態は、胆管が膵管に鈍角に合流するタイプを胆管型 (Choledochus-Pancreatic duct type: C-P type)、膵管が胆管に鋭角に合流するタイプを膵管型 (Pancreatic duct-Choledochus type: P-C type) とし⁷⁾、いずれにも分類されず、共通管をもち ERCP にて同時に造影されるタイプを共通管型 (Common Channel type: C-C type) とした。胆管形態は、嚢腫型 (非拡張部からの拡張部立ち上がりの辺縁が鋭角) と紡錘型 (同鈍角) に分けた。

免疫染色を用いた検討では、Ki-67 染色は一次抗体に MIB-1 (Immunotech) を用い、マイクロウェーブ過熱処理後 SAB 法にて染色した。陽性細胞率 (陽性細胞数/全細胞数 [500 細胞以上] $\times 100\%$) をもって、その上皮の増殖能とした。p53 蛋白の過剰発現は、PAb1801 (Oncogene science) と DO-7 (Novocastra) を用いた免疫染色で、全体がびまん性に染色される腫瘍 (Diffuse staining) と局所でも陽性細胞が集簇する腫瘍 (Focal staining) を陽性症例とし、症例 1, 2, 3, 5, 9, 10, 15, 19 に施行した。また、症例 3, 7, 8, 9, 15, 16, 19, 20, 21 の胆嚢内・胆管内アミラーゼ値を測定した。

各群間の Ki-67 陽性率、およびアミラーゼ値の差の検定は Wilcoxon 検定を用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

結 果

1. 対象の臨床病理学的特徴は、平均年齢は 38.6 ± 18.4 歳 (癌合併例 54.0 ± 11.9 歳)、女性の比率は、76.2% (癌合併例 80.0%)、胆石の合併率は

9.8% (癌合併例 20.0%)、合流形態は、C-P 型 57.1%、P-C 型 33.3%、C-C 型 9.5% (癌合併例 40.0%、40.0%、10.0%)、胆管形態は、拡張 (+) 76.2%、拡張 (-) 23.8% (癌合併 80.0%、20.0%)、共通管の長さは、 21.3 ± 10.4 mm (癌合併例 23.7 ± 8.4 mm) であった (Table 1)。

2. 胆嚢癌の合併率は 23.8% (5/21) で、胆管拡張 (+) で 23.5% (4/17)、拡張 (-) で 25.0% (1/4) であった (Table 1, 2)。組織型は全例が乳頭～高分化型腺癌であり、細胞異型度は高低が混在した。

3. 全症例の背景胆嚢粘膜像 (面積的に優勢である上皮の種類) は、固有上皮 (Proper epithelium) であるものが 76.2% (16/21)、また、固有上皮が内腔側に伸び上がる過形成性変化を認める過形成性固有上皮 (Hyperplastic proper epithelium) であるものが 47.6% (10/21) であった (Table 1)。特に、過形成性固有上皮は癌合併例の 80.0% (4/5) にみられ、非癌合併例の 37.5% (6/16) に比して高い傾向があった。

4. 胆嚢内アミラーゼ値は胆管拡張 (+) で平均 104960 U、胆管拡張 (-) で 18254 U (両者に有意差なし)、胆管内アミラーゼ値はそれぞれ 74799 U、2286 U (両者に有意差なし) であった。また、癌合併の有無と胆嚢・胆管内アミラーゼ値も関係がなくなった (Table 1)。

5. 背景胆嚢粘膜の Ki-67 陽性率は、癌合併例 ($n=4$) で $2.3 \pm 0.4\%$ 、非癌合併例 ($n=6$) で $2.9 \pm 1.8\%$ と有意差はなかった (Table 1, 3)。また、固有上皮と過形成性固有上皮では、その丈や核密度の高低の差により Ki-67 陽性細胞に局在はみられず、分布様式はほぼ均一であった (Fig. 1)。

6. p53 蛋白過剰発現は、癌合併 4 例中 3 例 75.0% にみられた (Table-4)。陽性細胞は癌部にのみみられ、その染色強度は組織異型度の高いものほど強くなり、陽性細胞の密度はより高くなる傾向がみられた (Fig. 2)。

考 察

膵・胆管合流異常と胆嚢癌の合併率は $6.3 \sim 33.3\%$ で^{1)~5)}、報告により若干の差はあるが両者に密接な関連があることは明らかである。しかし、合流異常における癌化の機序や癌原性物質については、未だ不明な点が多い。今回我々は、はたしてその癌化程度は合流異常例に得意なものなのか、通常

Table 1 Clinical data and histopathological features of gallbladder with APD

No	Age	Sex	GB Carcinoma	GB Stone	Type of ductal union	Type of choledochus	Length of common channel (mm)	Background mucosa of gallbladder	Choleic amylase value in gallbladder (choledochus)	p53 protein overexpression	Ki-67 **** index (%)
1	41	F	+	+	C-P*	Cystic	35	Hyp. proper	(13400 U)	—	2.1
2	45	F	+		P-C**	Cystic		Hyp. proper		+	2.4
3	52	F	+		C.C.***	Dilatation (—)	15	Hyp. proper	13050 U (845 U)	+	2.9
4	57	F	+		C-P	Cystic	21	Proper			
5	75	M	+		P-C	Spindle		Hyp. proper		+	1.9
54.0±11.9							25.0±10.0		13050 U (7122.5 U)		2.3±0.4
6	44	F	CBD car.		C-P	Cystic		proper			
7	5	F			C-P	Cystic		Pap. proper	252000 U (10200 U)		
8	9	F			C-P	Cystic		Pap. proper	57000 U (62000 U)		
9	10	M			C-P	Cystic	25	Hyp. proper	52730 U (53690 U)	—	2.2
10	11	F			C-P	Cystic		Hyp. proper		—	3.0
11	27	F			C-P	Cystic		Hyp. proper		—	2.1
12	27	M			C.C.	Dilatation (+)		Hyp. proper		—	6.8
13	28	F		CBD stone	C-P	Cystic		Proper, Pyloric gl.	(44950 U)		
14	37	M			P-C	Dilatation (—)		Proper			
15	38	M			P-C	Dilatation (—)	10	Hyp. proper	34730 U (2700 U)	—	1.4
16	41	F			C-P	Cystic	12	Hyp. proper	20630 U (14550 U)		
17	41	F		CBD stone	C.C.	Spindle		Proper, Pyloric gl.			
18	50	F		+	P-C	Spindle		Proper, Pyloric gl.			
19	52	F		CBD stone	C-P	Cystic	42	Proper, Pyloric gl.	83700 U (109300 U)	—	2.1
20	60	F			C-P	Cystic	20	Proper	163700 U (290300 U)		
21	60	F			P-C	Dilatation (—)	12	proper	6984 U (3314 U)		
33.8±17.4							20.2±11.1		83934.3 U (65667.1 U)		2.9±1.8
38.6±18.4							21.3±10.4		76508.2 U (55022.6 U)		2.7±1.4

Hyp : proper : Hyperplastic proper epithelium,

** : P-C the choledocus joining the pancreatic duct,

**** : Maximum dense area of Ki-67 positive cells.

* : C-P the pancreatic duct joining the choledocus,

*** : C-C the pancreatic duct and choledocus joining in common channel

Table 2 Relationship between APD, gallbladder carcinoma and the dilatation of choledochus

	Cases no.	With car. (%)	With gallbladder car. (%)
Present study	21	28.6	23.8
Choledocal dilatation	(+) 17 (-) 4	29.4 25.0	23.5 25.0
Hanyu et al. ¹⁾	50	36.0	18.0
	(+) 41 (-) 9	26.8 77.8	4.9 77.8
Nagakawa et al. ²⁾	33	39.4	33.3
	(+) 26 (-) 7	37.5 100	15.4 100
Toya et al. ³⁾	1062	23.6	12.9
	(+) 881 (-) 181	17.5 53.6	7.0 41.4
Mizumoto et al. ⁴⁾	32	9.4	6.3
Kimura et al. ⁵⁾	65		24.6

car : cancer

Table 3 Cell proliferation on gallbladder epithelium with APD

GB with stone		GB without stone	GB with APD	
Ki-67 index (%) (Present study)			Hyp. proper and proper epithelium With GB car.	2.3±0.4
			Without GB car.	2.9±1.8
Ki-67 index (%) (Itoi et al. ¹⁰⁾	Proper epithelium Sur. muc. metaplasia* Pyl. gl. metaplasia**	2.1±2.2 1.8±1.3 3.3±2.3		1.8±1.3
BrdU index (%) (Noguchi et al. ⁹⁾	0.31±0.36 (N=19)	0.54±0.60 (n=18)	Neck Body Fundus Maximum. value (n=15)	1.2±1.6 1.3±2.1 3.0±4.9 3.6±4.7

GB : Gallbladder, * Surface mucous cell metaplasia, ** Pyloric gland metaplasia, car. : cancer

胆嚢癌の特徴との比較検討をおこなった。

合流異常例の臨床病理学的特徴は、①通常の胆嚢癌に比し約 10 年若年発症（合流異常例 49.8 ± 9.8 歳，通常例 61.7 ± 10.3 歳）であり、②女性に高頻度（合流異常例 85.7%，通常例 43.1%）にみられる⁸⁾。また、③胆石の合併は少なく、④共通管も長い（合流異常例 27.6 ± 9.8 mm，通常例 5.3 ± 1.9 mm）とされる⁸⁾。自験例においても、胆嚢癌合併例の発症年齢は若く（平均 54.0 ± 11.9 歳），女性に高頻度にみられた（76.2%）。また、胆石の合併率は低く（19.0%），共通管の長さは平均 21.3 ± 10.4 mm で、①-④と同様の特徴を有した。しかし、合流異常例の中では、胆嚢癌の発生した症例 1-5 と、非癌合併症例 6-21 を比較してみると、前述した①-④のいずれ

においても差がみられなかった。また、胆管拡張の有無により、合併する胆道癌における胆嚢癌：胆管癌の比が異なるとの報告があるが¹¹⁻¹³⁾、自験例では、胆管拡張の有無による胆嚢癌合併の頻度に差はみられなかった。これらの結果は、合流異常症例の臨床病理学的特徴は明らかに出来るが、なぜ癌の発生頻度が高いかの理由は説明できない。

合流異常における背景粘膜（胆嚢上皮）は、胆汁逆流による破壊・再生の反復により細胞回転の亢進がみられるとされる⁶⁾。

野口らは BrdU を用い、合流異常の胆嚢粘膜の S 期細胞の比率を算出し、非合流異常例に比し細胞回転が速くなっていると述べているが⁶⁾、それが反応性変化（可逆的変化）と考えているのか、または腫

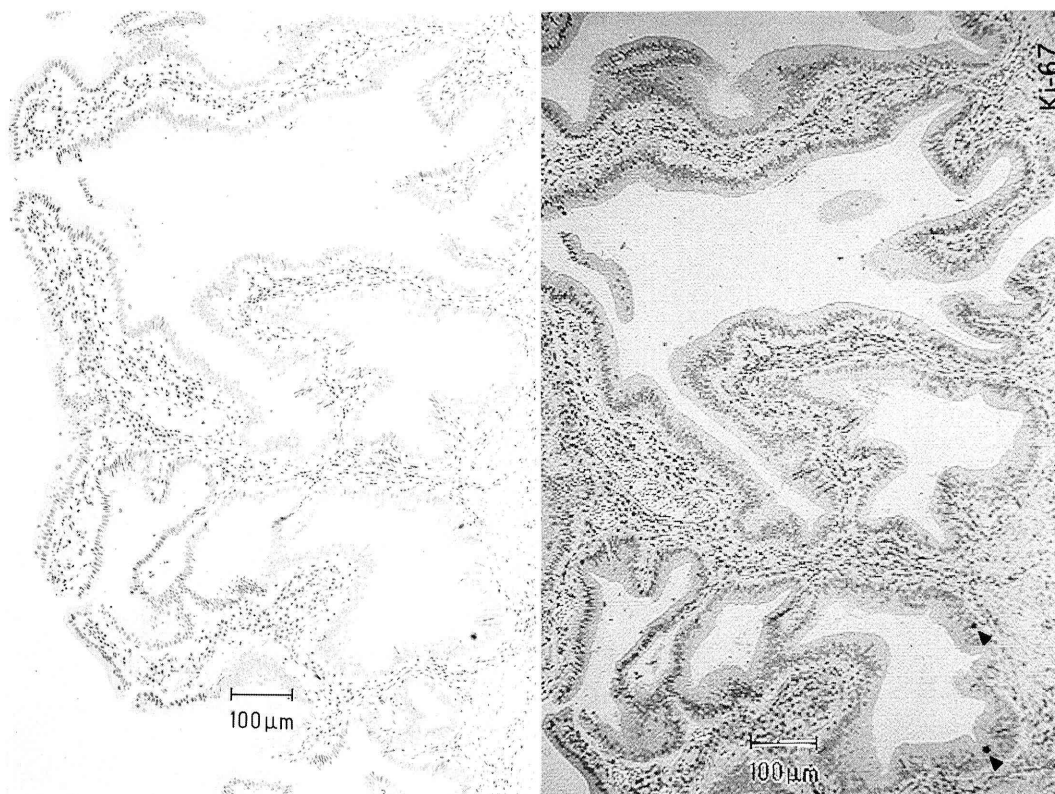


Fig. 1 Hyperplastic proper epithelium in the gallbladder with anomalous pancreaticobiliary, A few Ki-67 positive cells show in basal part of tubules (arrow) $\times 25$. Case no. 9 (Hematoxylin-eosin stainig [right] and Ki-67 staining [left])

Table 4 Frequency of p53 protein overexpression in gallbladder

	antibody	car. inv.	car. in situ	dysplasia	non-neoplasia
With APD					
Present study*	PAb1801	75% (3/4)	75% (3/4)	—	0% (0/6)
	DO-7	75% (3/4)	75% (3/4)	—	0% (0/6)
Without APD					
Kamel et al. ¹³⁾	CM-1	47% (14/30)	100% (1/1)	25% (2/8)	0% (0/4)
Wee et al. ¹⁴⁾	DO-7	92%	86%	28%	1 case
Oohashi et al. ¹⁵⁾ *	PAb1801	66.7% (8/12)	69.0% (20/29)	—	0% (0/29)

car.: cancer * : Diffuse plus focal staining : positive

瘍性変化の始まりと考えているのか明らかでない。そこで本検討でも、背景となる胆嚢粘膜の組織形態と細胞増殖能 (Ki-67 細胞陽性率) を検討し、癌合併胆嚢上皮と非癌合併胆嚢上皮を比較した。その結果は、癌合併例では、当教室の小柳ら⁹⁾の報告と同様に過形成性変化 (過形成性固有上皮) を高率 (80.0%) に認めたが、特別な細胞増殖能の亢進している像はみられなかった。自験例を糸井ら¹⁰⁾の結果と比較す

ると、合流異常胆嚢粘膜と非合流異常例の胆嚢粘膜の Ki-67 陽性率に差はなく、細胞回転の亢進はないと考えられた。

胆嚢内・胆管内の膵酵素値 (アミラーゼ値) は、胆管拡張 (+) 例において、合流形態によらずいずれも高値であり、胆管拡張 (+) → 胆管癌、胆管拡張 (-) → 胆嚢癌の特徴と一致をみなかった。この結果は、胆管拡張の程度が高くなると胆汁 (+ 逆流胰液)

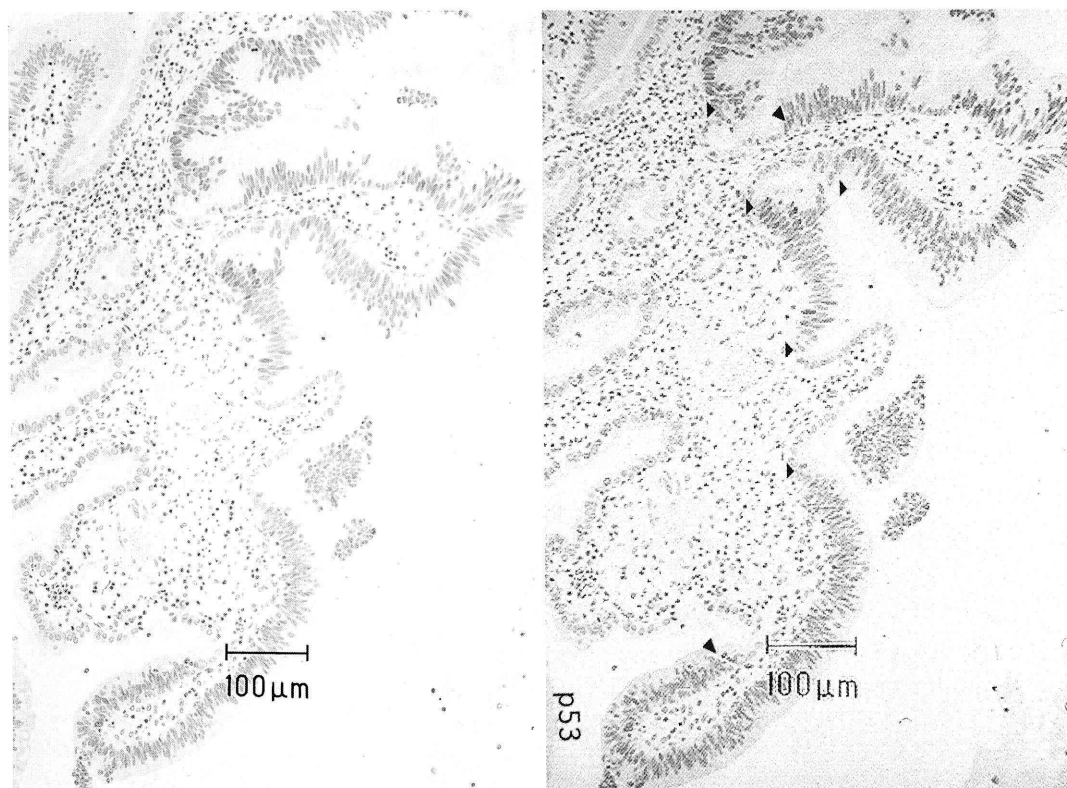


Fig. 2 Well differentiated tubular adenocarcinoma with p 53 protein overexpression, p 53 immunopositive distinguishes carcinoma from non-neoplasia sharply with front formations (arrow) $\times 33$, Case no. 3
(Hematoxylin-eosin staining [right] and p 53 staining [left])

のうっ滞も高度になることを示唆するが、胆汁の逆流が胆嚢癌合併の直接原因とする証拠にはなり得ない。なぜなら、合流異常例では若年時より胆汁の高アマラーゼ状態が続いているにもかかわらず、癌化を起こさない例も多くみられる(自験例の 40 歳以上症例の 54.5% (6/11))からである。合流異常における癌原物質の同定については、更なる検討を要すると思われるが、自験例では、胆道内アマラーゼ値の高低の癌の発生の有無とは関係がなかった。胆嚢癌は、その背景粘膜とし化生性変化や異型上皮をもつとされる¹¹⁾¹²⁾。自験例では、固有上皮の過形成性変化が特徴的で、癌合併の有無によらず高度の化生性変化がみられた症例はなく、合流異常例の癌化過程は、通常の癌化過程と別の主経路をもつ可能性が考えられた。

最近、多くの癌の癌化過程において、多段階の DNA 異常の蓄積の重要性が報告されてきており、

通常の胆嚢癌でも癌化の早期に p53 遺伝子の変異が関与しているとの報告がある^{13)~15)}。合流異常合併胆嚢癌においても 75.0%と高頻度で p53 蛋白の過剰発現がみられ、発現様式も癌部に特異性が高く、組織異型度にその染色強度や陽性細胞の密度が依存する傾向が認められた (Fig. 2)。PAb1801 と DO-7 では、抗体の認識する p53 蛋白の構造部位に差があるが、自験例では染色強度の強弱を除き、発現様式に差はみられなかった。1 つの遺伝子産物のみでその癌化過程は説明し得ないが、複数の遺伝子変異の組み合わせのパターンを詳細に分析することで、合流異常合併胆嚢癌の癌化過程を系統化できうであろう。今回の p53 染色の染色態度からは、合流異常に特異な p53 蛋白発現様式は認められなかった。

合流異常は高頻度に胆嚢癌・胆管癌の合併する。しかし、今回の検討では、特に背景粘膜の細胞回転の亢進はなく、また p53 蛋白過剰発現の面からも特

異な癌化過程や high risk factor となる原因を明らかに出来なかった。背景粘膜は丈の高い固有上皮であることが多かった(胆汁うっ滞による反応性変化)が、これは胆汁の逆流による反応性変化の可能性が高く、癌化の初期や前癌病変とも考えにくかった。

おわりに

合流異常例の胆嚢癌と非胆嚢癌の上皮の組織形態、増殖能、遺伝子産物(p53)を比較し、また、合流異常例と通常胆嚢癌を比較した結果、今回の検討の範囲では、合流異常例に特別な背景粘膜の存在や癌化過程はないものと考えられた。

文 献

- 1) 羽生富士夫, 大橋正樹, 大井 至: 胆道奇形と胆道癌—膵臓・胆管合流異常—. 胆と膵 **2**: 1637~1644, 1981
- 2) 永川宅和, 太田哲生, 竹下八州男 他: 膵胆管合流異常と胆道病変. 胃と腸 **20**: 361~368, 1985
- 3) 戸谷拓二, 渡辺泰宏, 藤井 正 他: 膵・胆管合流異常および先天性胆道拡張症における癌発生—本邦報告例 303 例の集計からの反省—. 胆と膵 **6**: 525~535, 1985
- 4) 水本龍二, 小倉嘉文, 楠田 司: 胆嚢癌の背景因子—特に胆石症と膵管胆道合流異常との関連について—. 胆と膵 **8**: 1041~1049, 1987
- 5) 木村邦夫, 篠崎正美, 大藤正雄: 胆嚢癌との関係, 膵管胆道合流異常, 第 1 版, 消化器病セミナー 27, 古味信彦編, へるす出版, 東京, 1987, 117~128
- 6) 野口明宏: 膵・胆管合流異常症における胆道上皮の細胞動態—Bromodeoxyuridine (BrdU) モノクローナル抗体を利用した解析—. 日消外会誌 **21**: 210~220, 1988
- 7) Kimura K., Ohto M., Saito H. et al.: Association of gallbladder carcinoma and anomalous pancreaticobiliary ductal union. Gastroenterology **89**: 1258~1265, 1994
- 8) Irwin S. and Morison J.E. et al.: Congenital cyst of common bile duct containing stones and undergoing cancerous change. Br. J. Surg. **32**: 319~321, 1944
- 9) 小柳泰久, 吉松昭彦, 伊藤伸一 他: 膵・胆管合流異常における胆嚢病変および胆嚢粘膜の病理組織学的所見. 胆道 **7**: 510~517, 1993
- 10) 糸井隆夫, 渡辺英伸, 粕谷和彦: 胆嚢前癌病変の病理, 胆と膵 **16**: 1~12, 1995
- 11) Albores-Saavedra J., Alicantravazquez A., Cruz-Ortiz H, et al.: The precursor lesions of invasive carcinoma. Cancer **45**: 919~927, 1980
- 12) Duarte I., Lianos O., Domke H. et al.: Metaplasia and precursor lesions of gallbladder carcinoma. Cancer **72**: 1878~1884, 1993
- 13) Kamel D., Paakko P., Nuorva K, et al.: p53 and c-erbB-2 protein expression in adenocarcinomas and epithelial dysplasias of the gallbladder. J. Pathol. **170**: 67~72, 1993
- 14) Wee A., Teh M. and Rsju G.C.: Clinical importance of p53 protein in gallbladder carcinoma and its precursor lesions. J. Clin. Pathol. **47**: 453~456, 1994
- 15) Oohashi Y., Watanabe H., Hatakeyama K.: p53 immunostaining distinguishes malignant from benign lesions of the gallbladder, Pathology International. **45**: 58~65, 1995

(別刷請求先: 〒160 新宿区西新宿 6-7-1

東京医科大学外科学教室 青木達哉)