

## 論文の内容の要旨

論文題目 潰瘍性大腸炎の病態とその杯細胞粘液組成の  
変化に関する臨床的研究

氏名 阿川千一郎

潰瘍性大腸炎は、炎症性腸疾患のうち頻度の少ない疾患であったが、本邦においても年々本疾患の患者数も増加してきている。しかしながらその病因は未だ不明であり、病態についても不明な点も多い。さらに欧米の研究で、全大腸炎型の長期経過例において癌の発生頻度が高いことが明らかにされてきた。また、癌を合併した潰瘍性大腸炎の背景粘膜には、*dysplasia*と呼ばれる異型腺管群が出現することも明らかにされ、大腸全体の粘膜が*cancer high risk*な状態にあるとの概念も生まれた。近年、粘液組織化学的検討により各種大腸疾患において杯細胞粘液組成が変化している事実が報告されている。しかしながら潰瘍性大腸炎の経時的な粘液組成の検討の報告はいまだなく、また癌及び*dysplasia*を合併した背景粘膜の検討もきわめてわずかである。そこで本研究では、シアル酸を染分けるCullinigらのPeriodic Acid-thionin Schiff/Potassium Hydroxide/Periodic Acid-Schiff染色(以下PAT/KOH/PAS染色)を用いて、潰瘍性大腸炎における活動期

と非活動期における大腸杯細胞粘液の変化を検討するとともに、その臨床的病態を経時的に検討した。また、癌及び前癌病変とされるdysplasiaを合併した潰瘍性大腸炎の癌およびdysplasiaと、その背景粘膜についても粘液組織化学的に検討することを目的とした。

対象： 1) 正常大腸粘膜：大腸内視鏡検査にて、盲腸まで全く異常を認められなかった48例について盲腸、上行結腸、横行結腸、S状結腸、直腸の各部位からの生検組織を対象とした。

2) 潰瘍性大腸炎：潰瘍性大腸炎患者118例から直腸鏡及び大腸内視鏡検査時に生検を施行した164検体を対象とし、炎症の程度はMattsの分類によりGrade 1をInactive、Grade 2~Grade 4をActiveに分けて検討した。

3) 潰瘍性大腸炎に合併した癌、dysplasia：潰瘍性大腸炎に合併した癌及びdysplasiaの20症例の切除標本を用い癌及びdysplasia部、さらにその背景粘膜の粘液染色性について検討した。対照として癌及びdysplasiaの合併を認められない潰瘍性大腸炎の11症例の切除標本、さらに通常の大腸癌26症例の切除標本を用いた。

方法： 10%ホルマリン固定後5ミクロンの連続切片とし、Hematoxylin-Eosin染色（以下H.E.染色と略す）とPAT/KOH/PAS染色を施行した。染色に際しては常に同一の正常大腸粘膜標本をコントロールとして用い、さらにKOHのステップを除いたPAT/PAS染色も同時に施行し染色性にばらつきのないことを確認した。

結果： 1) 正常大腸粘膜

横行結腸より遠位大腸では、赤色に染まるシアル酸の側鎖に隣接する水酸基を持たない粘液（以下red sialomucin:RSと略す）を主に含有している例が大半をしめており、横行結腸で54.2%、下行結腸、S状結腸では64.9%、直腸で66.0%に認められた。一方右側結腸ではRSを有する例は23.3%で、横行結腸より肛門側の大腸に比して青色～紫色に染まる隣接する水酸基を有する粘液（以下blue sialo-

mucin:BSと略す)を含む割合が増加していた。

## 2) 潰瘍性大腸炎の活動期と、非活動期

生検材料164検体のうち、活動期は85検体、非活動期は79検体であった。非活動期ではRSを含有するものが79検体中59検体(74.7%)でBSを含有するものは20検体(25.3%)であった。活動期では、BSを含有するものは85検体中49検体(57.6%)で、RSを含有するものは36検体(42.4%)であった。

## 3) 粘液組成の変化と病態の経時的検討

粘液組成と潰瘍性大腸炎の病態を経時的に検索できた症例は88例であった。緩解期にRSを有する症例では30例中18例(60.0%)は6ヶ月以上緩解期が続いた。BS症例では9例中5例(55.6%)は6ヶ月以内に炎症が再燃した。活動期にRSを有する症例では23例中18例(78.3%)は3ヶ月以内に緩解となったが、BS症例では26例中9例(34.6%)であり、他の8例(30.8%)は6ヶ月以上炎症が遷延した。

同一症例で、内視鏡的に活動部位と、より口側の正常粘膜から生検した19例における粘液染色性は、全症例において炎症部位と正常粘膜で同一であった。活動部位と正常粘膜の粘液組成が共にRSであった10例中8例は1~2ヶ月で緩解状態となったが、妊娠中の1例は7ヶ月炎症が続き、1例は12ヶ月後炎症が上行した。また、共にBSを主に含有していた9例中3例は3ヶ月以内に緩解となったが、4例は緩解後3~5ヶ月で再燃した。また、2例は3ヶ月間炎症が持続した後、口側に炎症が上行した。

## 4) 潰瘍性大腸炎に合併した癌、dysplasia

杯細胞粘液の減少、消失が認められるため全例での検討はできなかったが、検討できた癌5症例、dysplasia6症例では全例青~紫色の染色性を示した。

## 5) 潰瘍性大腸炎に合併した癌、dysplasiaの背景粘膜

潰瘍性大腸炎に合併した癌、又はdysplasiaのRSを有する背景粘膜に数個の腺管群がBSを示すという、モザイク状に染まる症例が20症例中14例(70.0%)に認め

られた。均一な染色性を示した症例は6例(30.0%:RS:3例、BS:3例)であった。潰瘍性大腸炎で手術され癌及びdysplasiaを認められなかった11症例では2例(18.2%)に小範囲にモザイク状に染まる部位が認められた。9例(81.8%:RS:6例、BS:3例)は均一な染色性を示した。通常の大腸癌の背景粘膜ではモザイクに染まる症例は全く認められなかった。

考察： PAT/KOH/PAS染色はThioninによる青色とPASによる赤色との二重染色であるため、隣接する水酸基を有するsialomucinと隣接する水酸基を持たないsialomucinとの含有量により青～青紫～赤紫～赤に染分け粘液組成の変化を容易に示唆できる方法と考えられる。Cullingらによれば正常大腸粘膜の杯細胞粘液は、シアル酸のC8にacylationのあるsialomucinを主に含有しこれがPAT/KOH/PAS染色上赤く染ると述べている。本研究の結果では正常大腸粘膜の横行結腸より左側結腸ではRSを有する例が約60%に認められたが、逆に右側結腸では約80%の例でBSが存在していた。正常大腸粘膜のシアル酸粘液組成は、部位により異なっていることが示唆された。以上の正常大腸粘膜粘液組成は左右差があるという事実から、本研究の潰瘍性大腸炎の病態とその粘液組成変化の検討は左側結腸で行なった。非活動期の左側結腸でRSを有するものが74.7%で、BSを有するものは25.3%とほぼ正常大腸粘膜の粘液組成の比率と同様であったが、活動期ではRSを有するものが42.4%で、BSを有するものは57.6%で、炎症の有無によりその粘液組成が変化することが確認された。緩解期における粘液組成と緩解期間の関連をみると、緩解期にRSを有する症例では緩解期が6ヶ月以上続く症例が多く、逆にBS症例では緩解期が短い傾向にあった。活動期における粘液組成と活動期の持続期間では活動期でRSを有する症例では3ヶ月以内に緩解となる症例が多く、BS症例では炎症が遷延する傾向が認められた。同一症例で内視鏡下に活動部位、非活動部位から同時に生検を施行し、その粘液組成と経時的経過を検討した結果では、活動部位と口側の非活動部位の粘膜が共にRSを有する症例は、共にBS症例より緩解しやすい

傾向にあり、活動部位と口側の非活動部位の粘膜が共にBSを有する症例は、炎症が遷延し、上行しやすいという傾向が認められた。以上からPAT/KOH/PAS染色は、潰瘍性大腸炎の病態の経過を予測するパラメーターとして临床上利用できる可能性を示唆しているものと考ええる。

欧米の経験から10年以上の経過を有する全大腸炎型の潰瘍性大腸炎は、cancer riskが高いこと、さらに癌を合併した潰瘍性大腸炎の背景粘膜には、dysplasiaと呼ばれる異型腺管群が出現することも明らかにされ、大腸全体の粘膜がcancer high riskな状態にあるとの概念も生まれた。このdysplasiaの存在が癌合併のhigh riskの指標になること、さらにdysplasiaの診断のためにはsurveillance colonoscopyが重要であることが指摘されている。潰瘍性大腸炎に合併した癌、およびdysplasiaにおけるシアル酸の粘液組成の詳細な検討は未だなく、その背景粘膜の粘液組織化学的研究もない。本研究ではまず癌部およびdysplasia部の粘液組成の変化を検討したが、杯細胞粘液が検討できた全例の癌またはdysplasiaで、対象とした通常の大腸癌部の粘液組成の変化と同様に、いずれもBSを含有しており、その形態学的変化と共に粘液組成にも変化が生じていることが確認できた。さらに興味深いことには、背景粘膜の検討で周囲粘膜がRSであるのに数個の腺管群がBSを有するという、モザイクに染る例が20症例中14例(70%)で認められた。この部のHE標本では、炎症の差異もなく、dysplasiaの腺管とも判定できず、形態学的な変化は認められなかった。癌またはdysplasiaを合併していない潰瘍性大腸炎の切除標本では、モザイクパターンは11例中2例(18.2%)しか認められなかった。通常の大腸癌の背景粘膜では、このような変化は全く認められていない。この事実は、長期経過例の潰瘍性大腸炎のsurveillance colonoscopyを行なう際に、PAT/KOH/PAS染色が潜在癌や、dysplasiaを発見するためのさらなるcancer high risk群の選別に利用できる可能性を示唆しており、臨床的に有用な手段と考える。

1. The first step is to identify the problem or question that needs to be addressed.

2. Next, gather relevant information and resources to understand the problem better.

3. Then, analyze the information and identify the key factors and variables involved.

4. After that, develop a plan or strategy to solve the problem or answer the question.

5. Finally, implement the plan and evaluate the results to see if the problem is solved.

6. If the problem is not solved, go back to step 2 and gather more information.

7. Repeat the process until the problem is fully resolved.

8. Document the process and results for future reference.

9. Share the findings with others who may be interested.

10. Reflect on the process and learn from any mistakes or challenges.

11. Use the knowledge gained to solve similar problems in the future.

12. Stay open to new ideas and approaches.

13. Be patient and persistent.

14. Seek help from others if needed.

15. Celebrate your successes.

16. Keep learning and growing.

17. Stay motivated and focused.

18. Be proactive and take initiative.

19. Communicate effectively.

20. Stay organized and manage your time well.

21. Be flexible and adaptable.

22. Stay positive and optimistic.

23. Be resilient and bounce back from setbacks.

24. Stay curious and ask questions.

25. Be a lifelong learner.

26. Stay healthy and take care of yourself.

27. Be grateful and appreciate what you have.

28. Stay humble and open to feedback.

29. Be a team player and support others.

30. Stay motivated and inspired.

潰瘍性大腸炎の病態とその杯細胞粘液組成の  
変化に関する臨床的研究

阿川 千一郎

潰瘍性大腸炎の病態とその杯細胞粘液組成の  
変化に関する臨床的研究

阿川千一郎

## I : 目的

潰瘍性大腸炎は、炎症性腸疾患のうち頻度の少ない疾患であったが、本邦においても年々本疾患の患者数も増加してきている<sup>1)</sup>。しかしながらその病因は未だ不明であり、病態についても不明な点も多い。さらに欧米の研究で、全大腸炎型の長期経過例において癌の発生頻度が高いことが報告されてきた<sup>2)-3)</sup>。また、癌を合併した潰瘍性大腸炎の背景粘膜には、dysplasiaと呼ばれる異型腺管群が出現することが明らかにされ、大腸全体の粘膜がcancer high riskな状態にあるとの概念が生まれた<sup>4)-10)</sup>。

近年、粘液組織化学的検討により各種大腸疾患において杯細胞粘液組成が変化している事実が報告されている<sup>11)-14)</sup>。しかしながら潰瘍性大腸炎の経時的な粘液組成の検討の報告はなく、また、癌化のリスクを有する全大腸炎型で長期経過症例が本邦に於いても増加してきており、癌化の早期発見が重要な課題となつてきているにもかかわらず、癌及びdysplasiaを合併した背景粘膜に関する検討もきわめてわずかである<sup>15)</sup>。そこで本研究では、シアル酸を染め分けるCullinigらのPeriodic Acid-thionin Schiff/Potassium Hydroxide/Periodic Acid-Schiff染色<sup>16)</sup> (以下PAT/KOH/PAS染色)を用いて、潰瘍性大腸炎における活動期と非活動期における大腸杯細胞粘液の変化を検討するとともに、どのような粘液組成の変化のもとに炎症が再燃し、緩解するのかを検討した。さらに同一症例での内視鏡検査にて、活動部位の粘膜と、より口側の正常粘膜を同時に生検し、炎症が上行する症例と、上行せずに緩解する症例でいかなる粘液組成の相異を呈するかを適及的に検討した。さらにまた、潰瘍性大腸炎に合併した癌および前癌病変とされるdysplasia部と、その背景粘膜についての粘液組織化学的特色を明らかにすることを目的とした。

## II : 対象と方法

### 1 : 対象

#### 1) 正常大腸粘膜

大腸内視鏡検査にて、盲腸まで全く異常が認められなかった48例について盲腸、上行結腸、横行結腸、S状結腸、直腸の各部位からの1個づつ生検組織を採取し、それらを対象とした。男性33例、女性15例で、年齢は16歳~71歳で平均年齢41.5歳であった。

#### 2) 潰瘍性大腸炎

潰瘍性大腸炎患者118例から直腸鏡及び大腸内視鏡検査時に生検を施行した164検体を対象とし、炎症の程度はMattsの分類<sup>17)</sup>によりGrade 1をInactive、Grade 2~Grade 4をActiveに分けて検討した。生検は、下行結腸、S状結腸、あるいは直腸の左側の大腸から1~6個、平均3個採取した。

さらに、炎症時の対照例として潰瘍性大腸炎でないradiation proctitis、ischemic colitis、amoebic colitis20例の左側結腸（S状結腸もしくは直腸）からの生検材料を用いて、その粘液組成についても検討した。

#### 3) 潰瘍性大腸炎に合併した癌およびdysplasia

20症例の潰瘍性大腸炎に合併したS状結腸または直腸の癌・dysplasiaの切除標本を用い、癌およびdysplasia部、さらにその背景粘膜の粘液染色性について検討した。本研究では、切除大腸粘膜において癌・dysplasia部を除く、HE染色上組織

学的な異常を認めない粘膜を背景粘膜と呼ぶことにした。対照として11症例の癌およびdysplasiaの合併が認められない潰瘍性大腸炎の左側結腸の切除標本、さらに26症例の通常のS状結腸癌、直腸癌の左側結腸の切除標本を用いた。検討したブロック数は8-15個で、平均10個であった。dysplasiaの診断はRiddellらの診断基準<sup>18)</sup>に準じた。

## 2: 方法

10%ホルマリン固定後5ミクロンの半連続切片とし、Hematoxylin-Eosin染色(以下H. E. 染色と略す)とPAT/KOH/PAS染色を施行した。PAT/KOH/PAS染色法は、PAS陽性粘液をThionin-Schiffで青色に染め、KOH/PAS陽性粘液をPASで赤色に染める二重染色方法で、シアル酸(図1)の環状内側鎖のO-acylationの有無と、位置の変化による染色性の差異を示す方法である。染色方法は表1に示すステップで行なった。この染色法によりシアル酸の環状内側鎖にacylationがないもの、あるいはC7またはC8のみにacylationのあるシアル酸(隣接する水酸基を有するsialomucin)はThionin-Schiffで青く染り、C8またはC78、C79、C89あるいはC789にacylationのあるシアル酸(隣接する水酸基を持たないsialomucin)はKOHの還元作用により生じる隣接する水酸基によりSchiffで赤く染る(表2)。Cullingらの原法ではinitial oxidationが十分ではなく19)本研究では酸化時間を60分にし、さらにThionin-Schiffのステップの後にBorohydrateを用いることで、Schiffの強染を除いた。Thionin試液は勝山の方法を用い室温にて作成した(表3)。なお染色に際しては常に同一の正常大腸粘膜標本をコントロールとして用い、さらにKOHのステップを除いたPAT/PAS染色も同時に施行し染色性にばらつきのないことを確認した。図2に隣接する水酸基を有するsialomucin、隣接する水酸基を持たないsialomucinの染色結果を示す。

### Ⅲ：結果

#### 1) 正常大腸粘膜

横行結腸より肛門側の大腸では、赤色に染まるシアル酸の側鎖に隣接する水酸基を持たない粘液(以下red sialomucinと略す)を主に含有している例が多く、横行結腸で54.2%、下行結腸、S状結腸では64.9%、直腸で66.0%に認められた。一方、上行結腸、盲腸の右側結腸ではred sialomucinを有する例は23.3%であったが、青色～紫色に染まる隣接する水酸基を有する粘液(以下blue sialomucinと略す)を主に含有する例は76.7%に認められ、横行結腸より肛門側の大腸に比してblue sialomucinを主に含有する例が多かった(図3)。

#### 2) 潰瘍性大腸炎の活動期と、非活動期

生検材料164検体のうち、活動期は85検体、非活動期は79検体であった。非活動期ではred sialomucinを含有するものが79検体中59検体(74.7%)でblue sialomucinを含有するものは20検体(25.3%)であった。活動期では、blue sialomucinを含有するものは85検体中49検体(57.6%)で、red sialomucinを含有するものは36検体(42.4%)であった(表4)。

図4、5に非活動期のred sialomucinを、図6、7に活動期にblue sialomucinを有する例を提示する。

潰瘍性大腸炎以外の大腸炎では、炎症を認めない6例中4例(66.7%)でred sialomucinを、炎症のある14例中8例(57.1%)はblue sialomucinを主に含有していた。

### 3) 粘液組成の変化と病態の経時的検討

粘液組成と潰瘍性大腸炎の病態を経時的に検索できた症例は88例であった。緩解期にred sialomucinを含有する症例では30例中18例(60.0%)は6ヶ月以上緩解期が続いたが、blue sialomucinを有する症例では9例中5例(55.6%)は6ヶ月以内に炎症が再燃した(表5)。一方、活動期にred sialomucinを含有する症例では23例中18例(78.3%)は3ヶ月以内に緩解となったが、blue sialomucinを有する症例では26例中9例(34.6%)のみが緩解となり、他の8例(30.8%)は6ヶ月以上炎症が遷延した(表6)。

同一症例で、内視鏡的に活動部位と、口側の正常粘膜から生検した19例における粘液染色性は、全症例において炎症部位と正常粘膜で同一であった。活動部位と正常粘膜の粘液組成が共にred sialomucinであった10例中8例は1~2ヶ月で緩解状態となったが、妊娠中の1例は7ヶ月炎症が続き、1例は12ヶ月後炎症が上行した。また、共にblue sialomucinを主に含有していた9例中3例は3ヶ月以内に緩解となったが、4例は緩解後3~5ヶ月で再燃した。さらに、2例は3ヶ月間炎症が持続した後、口側に炎症が上行した(表7)。したがって、red sialomucin群は、比較的短期間で炎症が緩解したが、blue sialomucin群では炎症が遷延、増悪する傾向が認められた。

### 4) 潰瘍性大腸炎に合併した癌およびdysplasia

杯細胞粘液の減少、消失が認められるため全例での検討はできなかったが、検討できた癌5症例、dysplasia6症例では全例において癌・dysplasia部は青~紫色の染色性(blue sialomucin)を示した(表8)。図8、9に潰瘍性大腸炎に合併した癌部、図10、11にdysplasia部の染色性を提示する。

## 5) 潰瘍性大腸炎に合併した癌およびdysplasiaの背景粘膜

潰瘍性大腸炎に合併した癌、又はdysplasiaの隣接する水酸基を持たない粘液 (red sialomucin) を主に含有する背景粘膜に、数個の腺管群が隣接する水酸基を有する粘液 (blue sialomucin) を有するという、染色上”モザイク”状の変化を示す症例が20症例中14例(70.0%)に認められた(図12)。均一な染色性を示した症例は6例(30.0%)で、3例で赤色の染色性、3例で青～紫色性を示した。潰瘍性大腸炎で手術され癌およびdysplasiaを認められなかった11症例では、2例(18.2%)に小範囲にモザイク状に染まる部位が認められた。9例(81.8%)は均一な染色性を示し、6例(54.6%)で赤色の染色性、3例(27.3%)で青～紫色の染色性を示した。通常の大腸癌の背景粘膜ではモザイクに染まる症例は認められなかった(表9)。

#### N: 考察

##### 1) ヒト正常大腸粘膜の杯細胞粘液組成は部位によって異なるか

大腸には杯細胞由来の粘液と、吸収細胞由来の粘液などが存在し、主に sulphomucin と sialomucin を含有しているとされる。従来、種々の大腸疾患に伴う粘液組成の変化、とりわけ大腸癌とその周囲粘膜の粘液組成の変化が報告されているが、杯細胞粘液と surface coat を同一に扱った報告もあり、また正常大腸粘膜の粘液組成に関する報告も少なく、対象も剖検例や手術材料を用いたものであり、部位別に検討した報告も少ない。

そこで本研究では、大腸内視鏡検査で得られた生検材料を用いて、ヒト正常大腸粘膜の杯細胞粘液組成について部位別の組織化学的検討を行なった。PAT/KOH/PAS 染色は Thionin による青色と、PAS による赤色との二重染色であるため、隣接する水酸基を有する sialomucin と、隣接する水酸基を持たない sialomucin との含有量により青～青紫～赤紫～赤に染め分け、粘液組成の変化を容易に判別できる方法である。Culling らによれば正常大腸粘膜の杯細胞粘液は、シアル酸の C8 に acylation のある sialomucin を主に含有し、これが PAT/KOH/PAS 染色上赤く染ると述べている。本研究の結果では、正常大腸粘膜の横行結腸より肛門側の左側結腸で赤色に染る粘液を有する例が約 60% に認められたが、逆に右側結腸では約 80% の例で青～赤紫に染る粘液が存在していた。正常大腸粘膜のシアル酸粘液組成は、部位により異なっていることが明らかにされた。右側結腸の約 80%、左側結腸の約 40%、直腸の約 35% で、Culling らに指摘されたような大腸癌で認められた異常粘液とされる青～赤紫に染る粘液が認められたが、これら青～赤紫に染めだされた粘液が、全て異常粘液とは考えられない。勝山らは N-acetylneuraminic acid (以下 NANA と略す) を Mild Oxidation Schiff 染色で染分け、右側結腸においては NANA が

多く存在するが、左側結腸ではしばしばこのシアル酸を欠いていると報告している<sup>20)</sup>。このNANAは隣接する水酸基を有しており、PAT/KOH/PAS染色上Thioninに染り青色を呈する。本研究の正常大腸粘膜の右側結腸で青～赤紫に染った粘液は、NANAである可能性があると考えられる。

## 2) 潰瘍性大腸炎の病態により杯細胞粘液組成は変化するか

以上の正常大腸粘膜粘液組成は左右差があるという事実から、本研究の潰瘍性大腸炎の病態とその粘液組成変化の検討は左側結腸で行なった。Ehsanullahら<sup>21)</sup>は、HID-AB染色を用い潰瘍性大腸炎の活動期では57%でsialomucinが増加しており、非活動期におけるsulphomucin優位の粘液組成と異なっていることを報告した。さらにCullingら<sup>22)</sup>は、PAT/KOH/PAS染色を用い潰瘍性大腸炎の炎症が高度になると隣接する水酸基を持たないシアル酸が減少していたと報告している。本研究でも、非活動期の左側結腸では、隣接する水酸基を持たないシアル酸(red sialomucin)を有するものが74.7%で、隣接する水酸基を有するシアル酸(blue sialomucin)を有するものは25.3%とほぼ正常大腸粘膜の粘液組成の比率と同様であったが、活動期では、red sialomucinを有するものが42.4%で、blue sialomucinを有するものは57.6%であり、炎症の有無によりその粘液組成が変化することが確認された。この炎症によるシアル酸の粘液組成の変化が、潰瘍性大腸炎のみに認められるのか否かについては問題が残る。そこで、radiation proctitis、ischemic colitis、amoebic colitisの20例の粘液組成について検討を加えたが、炎症を認めない6例中4例(66.7%)はred sialomucinを、炎症のある14例中8例(57.1%)はblue sialomucinを主に含有しており、炎症にともなう粘液組成の変化は潰瘍性大腸炎だけの変化ではないことが確認された。

### 3) 潰瘍性大腸炎の緩解、増悪が杯細胞粘液組成によって判別できるか

これまで潰瘍性大腸炎における炎症病態と、その粘液組成を経時的に検討した報告はない。潰瘍性大腸炎では、どのような状況下で炎症が再燃したり、上行したりするかという病態は未だ説明されておらず、日常診療においてその治療に苦慮することがしばしばある。緩解期における粘液組成と緩解期間の関連をみると、表5のごとく緩解期にred sialomucinを有する症例では緩解期が6ヶ月以上続く症例が多く、逆にblue sialomucinを有する症例では緩解期が短い傾向にあった。活動期における粘液組成と活動期の持続期間では図6のごとく活動期でred sialomucinを有する症例では3ヶ月以内に緩解となる症例が多く、blue sialomucinを有する症例では炎症が遷延する傾向が認められた。同一症例で内視鏡下に活動部位、非活動部位から同時に生検を施行し、その粘液組成と経時的経過をprospectiveに検討した結果では、表7に示すごとく活動部位と口側の非活動部位の粘膜が共にred sialomucinを有する症例は、共にblue sialomucinを有する症例より緩解しやすい傾向にあった。さらに、活動部位と口側の非活動部位の粘膜が共にblue-sialomucinを含有するシアル酸を有する症例は、炎症が遷延し、上行しやすいという傾向が認められた。また、19例全例で活動部位と口側の非活動部位の染色性が一致していた。このことは、単に炎症の有無のみが粘液組成を変化させている要因とは限らない事を示している。正常大腸粘膜における隣接する水酸基を有するシアル酸と、炎症部位や大腸癌で認められる隣接する水酸基を有するシアル酸との異同等問題は残るが、潰瘍性大腸炎の病態の経過を予測するパラメーターとしてPAT/KOH/PAS染色が臨床上利用できる可能性を示唆しているものと考える。

4) 潰瘍性大腸炎に合併した癌およびdysplasia部の粘液組成の変化は、通常の大腸癌と同等であるか

欧米の経験から10年以上の経過を有する全大腸炎型の潰瘍性大腸炎は、cancer riskが高い事が指摘されている<sup>7)-10)</sup>。本邦においても、潰瘍性大腸炎に癌を合併した症例も増加してきており、全大腸炎型の潰瘍性大腸炎患者の長期経過例が増えてきている現在、その早期発見が重要な課題となってきた。さらに欧米の臨床病理学的検討により、癌を合併した潰瘍性大腸炎の背景粘膜には、dysplasiaと呼ばれる異型腺管群が出現することも明らかにされ、大腸全体の粘膜がcancer high riskな状態にあるとの概念も生まれた。このdysplasiaの存在が癌合併のhigh riskの指標になること、さらにdysplasiaの診断のためにはsurveillance colonoscopyが重要であることが指摘されている<sup>23)-26)</sup>。潰瘍性大腸炎に合併した癌、およびdysplasiaにおけるシアル酸の粘液組成の詳細な検討は未だなく、その背景粘膜の粘液組織化学的研究もない。本研究ではまず癌部およびdysplasia部の粘液組成の変化を検討したが、杯細胞粘液が検討できた全例の癌またはdysplasiaで、対象とした通常の大腸癌部の粘液組成の変化と同様に、いずれも隣接する水酸基を有するシアル酸(blue sialomucin)を含有しており、その形態学的変化と共に粘液組成にも変化が生じていることが確認できた。

5) 潰瘍性大腸炎に合併した癌およびdysplasiaを背景粘膜の杯細胞粘液組成の変化によって捉えることは可能か

さらに興味深いことには、背景粘膜の検討で周囲粘膜がred sialomucin主に含有しているのに、数個の腺管群では、blue sialomucinを有する粘液を含有するという、本染色上”モザイク”に染る例が20例中14例(70%)で認められた。この部の

HE標本では、炎症の差異もなく、dysplasiaの腺管とも判定できず、形態学的な変化は認められなかった(図13)。この変化は、癌やdysplasiaを合併していない潰瘍性大腸炎の切除標本には11例中2例(18.2%)しか認められなかった。また、通常の大腸癌の背景粘膜では、このような変化は全く認められていない。この“モザイク”の所見は、潰瘍性大腸炎に合併した癌およびdysplasiaの背景粘膜の特徴的所見と考えられるが、今回の限られた成績からは、何故HE染色では差異の認められない腺管群でモザイク状の粘液組成の変化をきたしたのか、その解釈は容易に見い出せない。癌やdysplasiaを合併しない潰瘍性大腸炎ではその出現頻度が低く、このことから単に長期間にわたる炎症の再燃、緩解によって、粘膜の脱落と再生が繰り返され、その結果として粘液組成に変化をきたしたとは言えない。また、通常の大腸癌の背景粘膜には、全くこの変化は認められず、大腸癌発生にかかわる腫瘍発現諸因子が、この“モザイク”状の変化をもたらすという考え方も成立しない。しかし、胎児の大腸粘膜の杯細胞粘液は隣接する水酸基を有するシアル酸(blue sialomucin)であり、本研究で認められたblue sialomucinも粘液組成としてはprematureな状態であると推定できる。電子顕微鏡的には大腸粘膜の杯細胞粘液はthecaと呼ばれる包膜に包まれ、粗面小胞体、ゴルジ体を経て生成されるが<sup>27)</sup>、この時点ではすでに側鎖の種類により中性粘液、sialomucin、sulphomucinに分類されている。従って、粘液生成の過程でmodificationがかかり、その組成が変化するとすればゴルジ体以前の段階である。本研究で認められた粘液組成の変化は、粘液染色により容易に認められることができるが、本染色ではシアル酸の詳細な質的变化を捉えることはできない。またその変化をもたらす因子が何であるのかも不明であり、シアル酸の生化学的な検討や、遺伝子レベルの検討など、より詳細な研究が必要と考えられる。

潰瘍性大腸炎の全大腸炎型の長期経過例というcancer high risk群で、合併する可能性の高い癌を早期に発見するためにsurveillance colonoscopyが重要であ

ることが臨床的に指摘され、さらに潜在癌の発見にはそのマーカーとして dysplasia を見出すことが重要であるとされている。しかしながら、dysplasia は常に隆起性病変とは限らず、平坦な粘膜にも認められ<sup>28)</sup> その内視鏡診断は必ずしも容易ではない。本研究では癌またはdysplasiaを合併した潰瘍性大腸炎の背景粘膜にPAT/KOH/PAS染色で高率にモザイク状に染る腺管群が認められた。このことは、surveillance colonoscopyを行なう際の平坦粘膜の生検でこの所見が認めらる症例を、さらなるcancer high risk群として選別できる可能性が示唆された。

## V：結語

- ① 正常大腸では、左側結腸で側鎖に隣接する水酸基を持たないシアル酸(red sialomucin)を、右側結腸で隣接する水酸基を有するシアル酸(blue sialomucin)を主に有しており、左右大腸で粘液組成に差異が認められた。
- ② 潰瘍性大腸炎の非活動期の左側結腸では、隣接する水酸基を持たないシアル酸(red sialomucin)を有する例が74.7%、活動期の左側結腸では、隣接する水酸基を有するシアル酸(blue sialomucin)を含有する例が57.6%に認められ、炎症の有無により粘液組成に差異が認められた。
- ③ 非活動期で隣接する水酸基を持たない(red sialomucin)例は、隣接する水酸基を有する(blue sialomucin)例に比して緩解持続期間が長い傾向が認められた。
- ④ 活動期で隣接する水酸基を持たない(red sialomucin)例は、隣接する水酸基を有する(blue sialomucin)例より活動期の期間が短い傾向が認められた。
- ⑤ 同一症例、同時期の炎症部粘膜、及びその口側の非炎症部粘膜の粘液組成は同じであった。両者とも隣接する水酸基を持たない(red sialomucin)例は、容易に緩解する傾向が認められ、逆に隣接する水酸基を有する(blue sialomucin)例は炎症が遷延する傾向が認められた。
- ⑥ 癌、dysplasiaは全例隣接する水酸基を有するシアル酸(blue sialomucin)を主に含有しており、その背景粘膜にはHE染色上dysplasticにみえない腺管にも隣接する水酸基を有するシアル酸(blue sialomucin)がモザイク状に認められた。
- ⑦ PAT/KOH/PAS染色は、潰瘍性大腸炎の病態の経過を予測するパラメーターとして臨床的に利用できる。
- ⑧ cancer high risk群である潰瘍性大腸炎の長期経過例のsurveillance colonoscopyにおける生検で、PAT/KOH/PAS染色上モザイク状変化が認められた場合には、この所見を癌およびdysplasiaの早期発見をするための一つの指標として利用できる可能性がある。

図 1

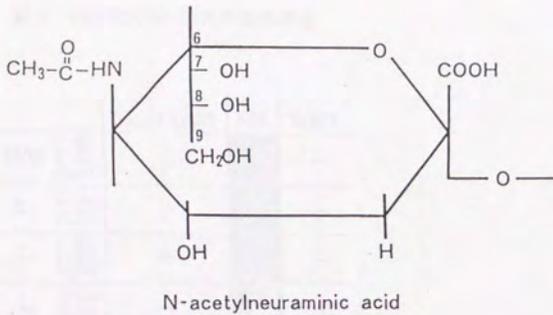


表 1 PAT/KOH/PAS染色方法

- 1) 脱パラフィン、水洗、蒸留水洗
- 2) 1%過ヨウ素酸 60分
- 3) 流水水洗 10分、蒸留水洗
- 4) Thionin-Schiff 60分
- 5) 流水水洗 10分、蒸留水洗
- 6) Sodium borohydride:0.1%NaBH<sub>4</sub> in 1%Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2分
- 7) 流水水洗 10分、蒸留水洗
- 8) 70%アルコール洗
- 9) 1%KOH in 70%アルコール 60分
- 10) 流水水洗 10分、蒸留水洗
- 11) 1%過ヨウ素酸 10分
- 12) 流水水洗 10分、蒸留水洗
- 13) Standard schiff 30分
- 14) 流水水洗 10分、蒸留水洗
- 15) 脱水、透徹、封入

表2 PAT/KOH/PAS染色の染色原理

	Thionin Schiff	KOH	Schiff
NANA $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{matrix}$	+	↓	-
C <sub>7</sub> $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{---OH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{matrix}$	+	Saponification	-
C <sub>9</sub> $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OAc} \end{matrix}$	+		-
C <sub>8</sub> $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OH} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{matrix}$	-		+
C <sub>7B</sub> $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{matrix}$	-		+
C <sub>79</sub> $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{---OH} \\   \\ \text{CH}_2\text{OAc} \end{matrix}$	-		+
C <sub>89</sub> $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OH} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{CH}_2\text{OAc} \end{matrix}$	-		+
C <sub>789</sub> $\begin{matrix} \text{---O} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{---OAc} \\   \\ \text{CH}_2\text{OAc} \end{matrix}$	-		+

表3 Thionin Schiff 試薬作成法

1: distilled water	100ml
2: conc HCl	4ml
3: sodium metabisulfite	2.5g
4: thionin	1.0g

stirrerを用いて室温にて一晩攪拌させた後、  
1gの活性炭を加え、1~2分作用させ濾過する。

図 3

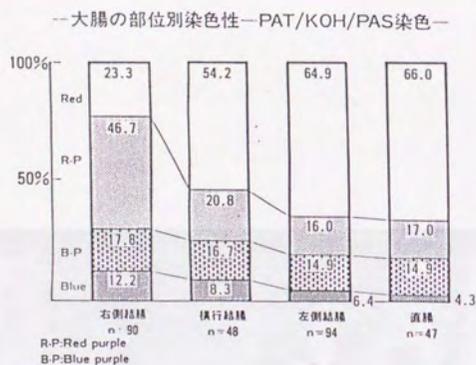


表 4 活動期、非活動期における粘液染色性

	red	purple/blue	計
非活動期	59 (74.7%)	20 (25.3%)	79
活動期	36 (42.4%)	49 (57.6%)	85

P<0.01

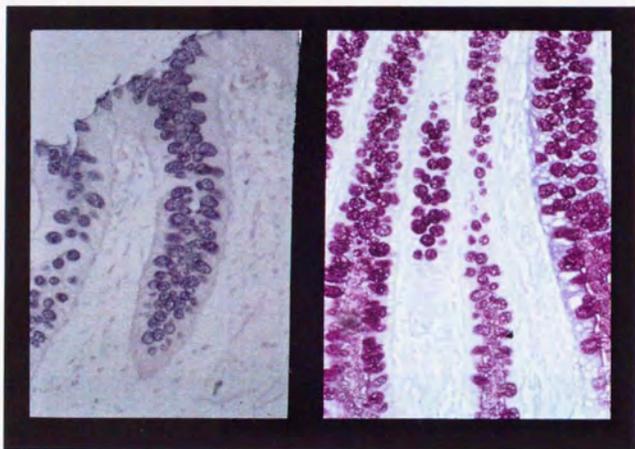


図2 PAT/KOH/PAS染色結果

左：隣接する水酸基を有するシアル酸（青）

右：隣接する水酸基を持たないシアル酸（赤）



図 4 非活動期のHE染色

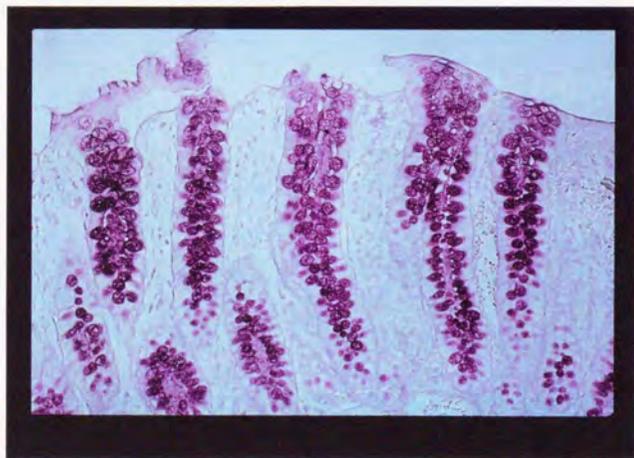


図 5 非活動期のPAT/KOH/PAS染色

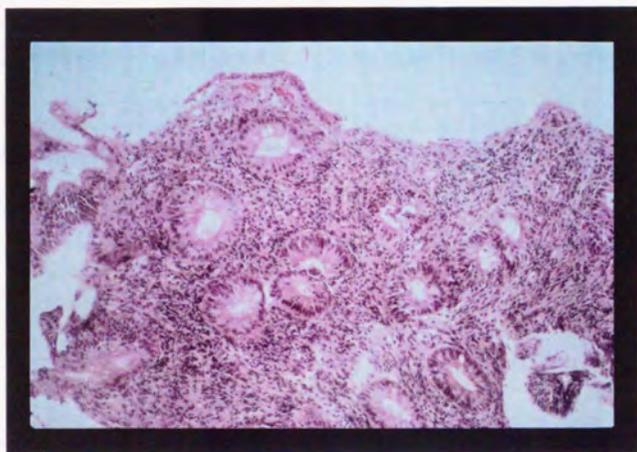


図6 活動期のHE染色

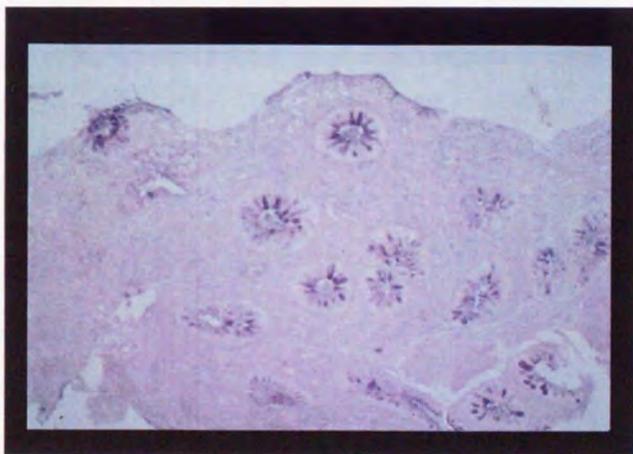


図7 活動期のPAT/KOH/PAS染色

表5 非活動期における粘液染色性と緩解持続期間

緩解期間	-1ヶ月	-3ヶ月	-6ヶ月	-12ヶ月	12ヶ月以上-
Red sialomucin	0例	4例	8例	12例	6例
Blue sialomucin	1例	1例	3例	2例	2例

P=0.39

表6 活動期における粘液染色性と炎症持続期間

炎症持続期間	-1ヶ月	-3ヶ月	-6ヶ月	-12ヶ月	12ヶ月以上-
Red sialomucin	8例	10例	3例	1例	1例
Blue sialomucin	5例	4例	9例	5例	3例

P<0.05

表7 炎症部位と口側の非炎症部位の粘液染色性と臨床経過

Case	診断	直腸	口側大腸	臨床経過
1	直腸炎	red	red	1ヶ月後:緩解
2	直腸炎	red	red	1ヶ月後:緩解
3	直腸炎	red	red	1ヶ月後:緩解、12ヶ月後:直腸炎
4	直腸炎	red	red	3ヶ月後:緩解
5	直腸炎	red	red	7ヶ月後:緩解、妊娠期間中
6	左側結腸炎	red	red	1ヶ月後:緩解、5ヶ月後:直腸炎
7	左側結腸炎	red	red	1ヶ月後:緩解
8	左側結腸炎	red	red	1ヶ月後:緩解、12ヶ月後左側結腸炎
9	左側結腸炎	red	red	2ヶ月後:緩解
10	左側結腸炎	red	red	2ヶ月後:緩解
11	直腸炎	purple	purple	3ヶ月後:緩解、4ヶ月後:直腸炎
12	直腸炎	purple	purple	3ヶ月後:緩解、5ヶ月後:直腸炎
13	直腸炎	purple	purple	3ヶ月後:緩解、5ヶ月後:左側結腸炎
14	直腸炎	purple	purple	4ヶ月後:緩解
15	直腸炎	purple	purple	3ヶ月後:全大腸炎
16	左側結腸炎	purple	purple	3ヶ月炎症持続
17	直腸炎	blue	blue	6ヶ月後緩解
18	直腸炎	blue	blue	3ヶ月後:左側結腸炎:12ヶ月後:全大腸炎
19	直腸炎	blue	blue	3ヶ月後:全大腸炎

表8 潰瘍性大腸炎に合併した癌、dysplasia部の染色性

	red	purple/blue
Carcinoma	0	5
Dysplasia	0	6
正常粘膜	91 (65%)	39 (35%)

P < 0.01

表9

背景粘膜の染色性

	red	purple/blue	モザイク
癌、dysplasia (+)	3 (15.0%)	3 (15.0%)	14 (70.0%)
癌、dysplasia (-)	6 (54.6%)	3 (27.3%)	2 (18.2%)
通常の大腸癌	9 (34.6%)	17 (65.4%)	0 ( 0%)

P < 0.01

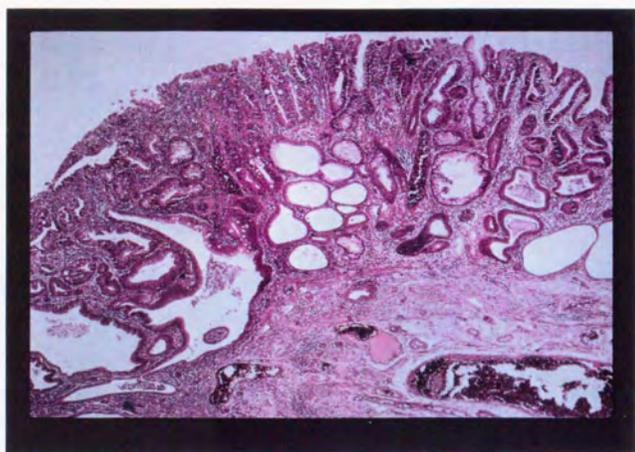


図8 潰瘍性大腸炎に合併した癌部のPAT/KOH/PAS染色

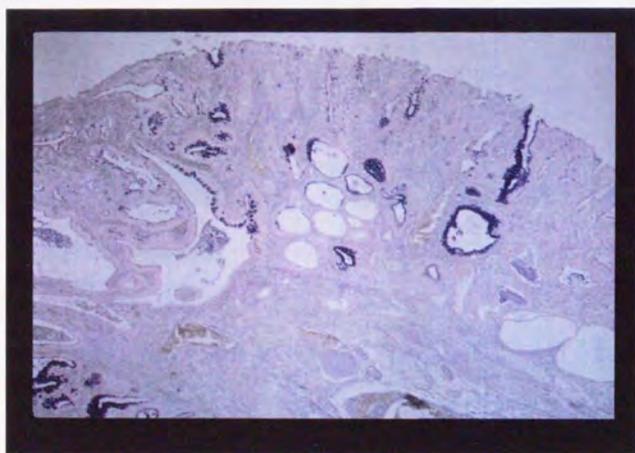


図9 同部のH&E染色

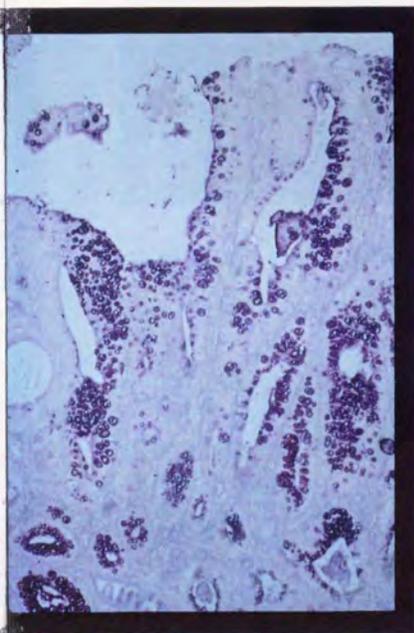


図10 潰瘍性大腸炎に合併した  
dysplasia部のPAT/KOH/PAS染色



図11 同部のHE染色

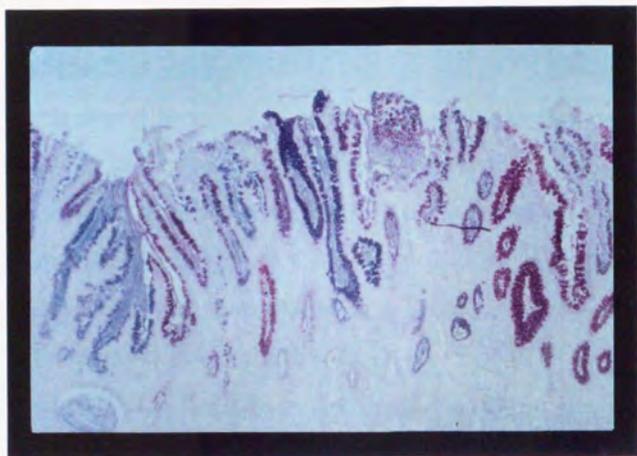


図 1 2 潰瘍性大腸炎に合併したdysplasiaの背景粘膜に認められたモザイク状の粘液組成変化



図 1 3 同部のH&E染色

参考文献

- 1) 厚生省特定疾患. 難治性炎症性腸管障害調査研究班. 昭和63年度業績集  
1989 34:33-43
- 2) Goldgraber MB, Kirsner JB. Carcinoma of the colon in ulcerative  
colitis. *Cancer* 1964;17:657-665
- 3) Kewenter J, Ahlman H, Hulten L. Cancer risk in extensive ulcerative  
colitis. *Ann Surg* 1978;188:824-828
- 4) Morson BC, Pang LS. Rectal biopsy as an aid to cancer control in  
ulcerative colitis. *Gut* 1967;8:423-434
- 5) Cook MG, Path MR, Goligher JC. Carcinoma and epithelial dysplasia  
complicating ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1975;68:1127-1136
- 6) Yardley JH, Keren DF. "Precancer" lesions in ulcerative colitis:  
a retrospective study of rectal biopsy and colectomy specimens.  
*Cancer* 1974;34:835-844
- 7) Lennard-Jones JE, Morson BC, Ritchie JK, Shove DC, Williams CB. Cancer  
in colitis: assessment of the individual risk by clinical and  
histological criteria. *Gastroenterology* 1977;73:1280-1289
- 8) Butt JH, Lennard-Jones JE, Ritchie JK. A practical approach to the risk  
of cancer in inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am* 1980;64:  
1203-1220
- 9) Allen DC, Biggart JD, Pyper PC. Large bowel mucosal dysplasia and  
carcinoma in ulcerative colitis. *J Clin Pathol* 1985;38:30-43
- 10) Lennard-Jones JE, Melville DM, Morson BC, Ritchie JK, Williams CB.  
Precancer and cancer in extensive ulcerative colitis: findings among  
401 patients over 22 years. *Gut* 1990;31:800-806

- 11) Culling CFA, Reid PE, Burton JD. A histochemical method of differentiating lower gastrointestinal tract mucin from other mucins in primary or metastatic tumours. *J Clin Pathol* 1975;28:656-658
- 12) Filipe MI, Branfoot AC. Abnormal patterns of mucus secretion in apparently normal mucosa of large intestine with carcinoma. *Cancer* 1974;34:282-290
- 13) Filipe MI, Mughal S, Bussey HJ. Pattern of mucous secretion in the colonic epithelium in familial polyposis. *Invest Cell Pathol* 1980;3:329-343
- 14) Boland CR, Lance P, Levin B, Riddell RH, Kim YS. Abnormal goblet cell glycoconjugates in rectal biopsies associated with an increased risk of neoplasia in patients in ulcerative colitis: early results of a prospective study. *Gut* 1984;25:1364-1371
- 15) Habib NA, Dawson PM, Krausz T, Blount Ma, Kersten D, Wood CB. A study of histochemical changes in mucus from patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and diverticular disease of the colon. *Dis Col & Rec* 1986;23:15-17
- 16) Culling CFA, Reid PE, Dunn WL. A new histochemical method for the identification and visualization of both side chain acylated and nonacylated sialic acids. *J Histochem Cytochem* 1976;24:1225-1230
- 17) Matts SGF. The value of rectal biopsy in the diagnosis of ulcerative colitis. *Quarterly J Medicine* 1961;30:393-407
- 18) Riddell RH. Dysplasia in inflammatory bowel disease: Standardized classification with provisional clinical application. *Human Pathology* 1983;14:936

- 19) 勝山務、小野謙三. シアル酸の組織化学. 信州医誌 1981;29:643-655
- 20) 勝山務、小野謙三. 大腸粘膜における粘液産生. 医のあゆみ 1982;122:311-322
- 21) Ehsanullah M, Filipe MI, Gazzard B. Mucin secretion in inflammatory bowel disease: Correlation with activity and dysplasia. Gut 1982;23:485-489
- 22) Culling CFA, Reid PE, Dunn WL. A histochemical comparison of the O-acylated sialic acids of the epithelial mucins in ulcerative colitis, Crohn's disease and normal control. J Clin Pathol 1979;32:1272-1277
- 23) Riddel RH, Morson BC. Value of sigmoidoscopy and biopsy in detection of carcinoma and premalignant change in ulcerative colitis. Gut 1979;20:575-580
- 24) Fuson JA, Farmer RG, Hawk WA, Sullivan BH. Endoscopic surveillance for cancer in chronic ulcerative colitis. Am J Gastroenterol 1980;73:120-126
- 25) Lashner BA, Silverstein MD, Hanauer SB. Hazard rates for dysplasia and cancer in ulcerative colitis. Results from a surveillance program. Dig Dis Sci 1989;34:1536-1541
- 26) Korelitz BI. Considerations of surveillance, dysplasia, and carcinoma of the colon in the management of ulcerative colitis and Crohn's disease. Med Clin North Am 1990;74:189-199
- 27) 沢田俊夫、武藤徹一郎、森岡恭彦. 大腸腺腫の異型性と電子顕微鏡学的特徴について. Progress of Digestive Endoscopy 1981;19:28-34

28) Butt JH, Konishi F, Morson BC, Lennard-Jones JE, Ritchie JK. Macroscopic lesion in dysplasia and carcinoma complicating ulcerative colitis. Dig Dis Sci 1983;28:18-26

