

大腸ポリープにおける癌と腺腫の鑑別診断と腫瘍マーカーの活用について

三村 恵子、梶田 理世、大前 重典

近年内視鏡技術の発達により大腸ポリープの発見と切除が一般的に行われるようになってきました。そのため大腸ポリープの切除標本の検体数が増え、切除標本においても腺腫か癌かの判定に迷うことがあります。そのような場合最終診断は病理医の主観と経験に頼ることが多いのです。今回我々は日常的な癌と腺腫の診断をもっと客観的に行えないかと考え、腫瘍マーカーを用いて免疫染色を行い、その標識率の差より判定する方法について検討しました。

今回腫瘍マーカーとして用いたKi-67ですが、約20年前にキール大学の病理学教室で開発された抗体で、悪性リンパ腫の低悪性度と高悪性度の鑑別に使われました。低悪性度の濾胞性リンパ腫のKi-67の局在を示す免疫染色標本像と高悪性度のびまん性大細胞性B細胞リンパ腫のKi-67の局在を示す免疫染色標本像を比べると圧倒的に高悪性度のリンパ腫で標識率が高くなります。

材料と方法

材料は内視鏡的に摘出された大腸ポリープを用いホルマリン固定後、パラフィン包埋したものを3 μ に薄切しHE染色、免疫染色に使用しました。免疫染色はKi-67マウスモノクローナル抗体を用い、ダコ社のENVISION+キットを用いて行いました。また抗原賦活化の検討のためにMW500w照射を1, 2, 3回と分けて行い、また10mmol/lクエン酸緩衝液pH6.0での95 $^{\circ}$ C40分間の温浴処理も行い検討しました。ダコ社のENVISION+の免疫染色法の特徴は一次抗体反応後、二次抗体と標識酵素(パーオキシターゼ)を多数結合させた高分子ポリマーを反応させるもので染色感度はよく、2ステップですむので染色方法も簡単なのが特徴です。

結果

まず、Ki-67の抗原賦活化方法の検討結果ではMW 3回と95 $^{\circ}$ C40分の温浴処理で最もよい結果が得られました。そのため、Ki-67を用いた免疫染色ではすべて抗原賦活化として95 $^{\circ}$ C40分間の温浴処理を行いました。

次に実際のポリープ標本での染色結果ですが、①非常に分化の良い癌と考えられる部分ではKi-67の免疫染色像で、多数の核に陽性反応が認められました。②中等度異型を有する腺腫と考えられる部のKi-67免疫染色像では、非常に分化の良い癌の部分と比べて陽性に染まる部分が少なくなっていました。③鋸歯状腺腫の部分ではKi-67免疫染色像では腺腫部と同様の染色結果が得られました。④粘液の産生がよくみられ腺腫様にみえる部分ですが、Ki-67免疫染色では陽性に染まる部分が非常に多くなりこの部も非常に分化の良い癌と考えられました。各部のKi-67の免疫染色の結果を標識率で表しますと、①は42.5%、②は16.1%、③は14.5%、④は50.6%、そして正常腺では3%でした。

まとめ

Ki-67免疫染色では抗原賦活が必要であるが、MW 3回照射と95 $^{\circ}$ C40分の温浴処理が良い染色結果が得られた。また、標本の薄切から染色まで長く放置しておくとも抗原賦活化を行っても全く染まらなかった。つぎに腺腫から癌に変化していくにつれてKi-67の標識率が3倍にも増加すること、また、粘液産生の目立つ非常に分化した癌では組織学的に判定が難しいが免疫染色では標識率から明らかであった。以上より、Ki-67免疫染色は腺腫と癌の判定補助診断として有用であると思われる。

謝意

最後に本研究を行うにあたりまして、ご協力いただきましたときわ病院の検査室の方々と兵庫県立尼崎病院研究検査部病理の方々に御礼申し上げます。