

<特集「消化器がん 診断・治療の進歩②」>

膵がんに対する超音波内視鏡下穿刺吸引法 (EUS-FNA) による診断

～膵がん診断における EUS-FNA の現状と展望～

今岡 大^{*1}, 清水 泰博², 山雄 健次¹

¹愛知県がんセンター中央病院消化器内科

²愛知県がんセンター中央病院消化器外科

Endoscopic Ultrasound-guided Fine Needle Aspiration in Pancreatic Tumors

Hiroshi Imaoka¹, Yasuhiro Shimizu² and Kenji Yamao¹

¹Department of Gastroenterology, Aichi Cancer Center Hospital

²Gastroenterological Surgery, Aichi Cancer Center Hospital

抄 録

超音波内視鏡下穿刺吸引法 (endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: EUS-FNA) は膵臓を胃や十二指腸内腔よりリアルタイムに観察しつつ、病変を穿刺し細胞診や組織を得て病理学的な検索を行うことを可能にする。これまでの報告によれば、その診断能は感度：80%以上、特異度：100%と高く、さらには EUS-FNA で得られた検体を用い *K-ras* など様々な遺伝子変異の情報を加味することで、更なる診断能向上が期待できる。本稿では、EUS-FNA の手技の概要にくわえて、EUS-FNA の診断成績、診断能の向上をはかる上での様々な手技の工夫などについて述べる。

キーワード：超音波内視鏡下穿刺吸引法 (endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: EUS-FNA), 膵がん, 迅速細胞診。

Abstract

Endoscopic ultrasonography (EUS) is considered the most useful diagnostic modality for the diagnosis of pancreatic lesions. Recent advance permit the performance of fine-needle aspiration (FNA) under EUS guidance. It has been reported that the sensitivity and specificity of EUS-FNA for the diagnosis of pancreatic tumor are over 80% and 100%, respectively. Furthermore, analysis of abnormal genes, such as *K-ras*, increases the diagnostic yield of EUS-FNA of pancreatic masses, when the results of FNA are inconclusive. We summarize the technique and role of EUS-FNA for the diagnosis of pancreatic cancer.

平成24年5月28日受付

*連絡先 今岡 大 〒464-8681 名古屋市中種区鹿子殿1番1

hiroshi.imaoka.md@me.com

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

Key Words: Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: EUS-FNA, Pancreatic cancer, Immediate cytologic evaluation.

はじめに

膵臓は解剖学的に後腹膜に位置し、周囲を胃や小腸をはじめとした多くの臓器に囲まれる。このため、これら周辺臓器や腸管内のガスの影響によって、膵がんの診断はしばしば困難である。超音波内視鏡 (endoscopic ultrasonography: EUS) はその名の通り、先端に超音波の観測装置を備えた内視鏡であり、膵に隣接する胃や十二指腸内腔より観察を行うことによって、腸管内のガスの影響を最小限に抑えつつ、膵を詳細に超音波画像で観察することができる。さらにリアルタイムに超音波画像で観察を行いつつ、病変を穿刺し細胞診や組織を得て病理学的な検索や遺伝子解析などを行うことが可能である。この手技は超音波内視鏡下穿刺吸引法 (endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: EUS-FNA) と呼称されている。1992年に Vilmann らによって膵腫瘍に対する臨床応用が初めて報告され¹⁾、それ以降には数多くの報告があり、その高い診断能と安全性が明らかとなっている。2010年4月には本邦において保険収載されたことから全国に急速に普及し、また最近では治療分野への応用が始まるなど、EUS-FNAの臨床上の重要性はますます増加しつつある²⁾³⁾。本稿では膵病変に対するEUS-FNAの有用性と手技の実際について、文献的考察を加えて述べてみたい。

EUS-FNAの方法

1. 使用する機器、穿刺針

超音波内視鏡には内視鏡軸に360度の超音波画像が得られるラジアル型と内視鏡軸に平行に180度の超音波画像が得られるコンベックス型があるが、EUS-FNAに使用される内視鏡は鉗子孔から対象物までほぼ全穿刺経路が超音波画像上で描出できるコンベックス型超音波内視鏡を使用する (図1)。観測装置は通常の体外式超

音波検査に使用する超音波診断装置である。内視鏡先端に装着された超音波プローブは5~10 MHzの高周波のものであり、空間分解能に優れたものを用いる。

通常、EUS-FNAに際しては22Gあるいは25Gの穿刺針が用いられる。22Gと25Gの穿刺針の間で検体採取量についてのprospectiveな比較検討⁴⁾⁵⁾もされているが、25G穿刺針の方が血液混入も少なく検体採取に優れているという報告⁶⁾や、両者の診断能に差はないとするものもあり、現時点では統一した見解はない。一方、悪性リンパ腫や自己免疫性膵炎などの診断においては細胞診のみでは不十分であり、組織学的な情報が不可欠であり組織診が重要である。十分な評価を可能とするためにTru-cut針や19Gの穿刺針が用いられることもあるが、通常の穿刺針に比べて硬く取り扱いが困難で穿刺可能な部位が限定される。穿刺針については操作性や検体採取量の向上を目的として、常に形状や素材などの改良が進められている。用途に応じて扱い易い穿刺針を選択することが重要である。

2. 手技の実際

患者には十分な麻酔と鎮静を行い、呼吸循環動態モニタリング下に施行する。まず、膵臓の描出のためには内視鏡を胃内に挿入すると、胃体上部から膵体尾部が、十二指腸球部と下行脚からは膵頭部が描出される。目的とする病変が描出された後にはEUSにより病変を超音波画像でリアルタイムに観察しながら穿刺を行う (図2)。この際にはカラードプラーを併用し血管などを避けて安全に穿刺を行うことが重要である。病変が穿刺されたら穿刺針のスタイルットを抜去し、陰圧をかけたシリンジを穿刺針に装着し、穿刺針を病変内で10~20回前後させた後に陰圧を解除し、穿刺針を抜去する。得られた検体は必要に応じてスライドガラスへ塗布し細胞診 (図3, 4)、ホルマリン液にて固定した後に組織診、施設によってはセルブロッ

ク標本を作製している施設もある (図5)。

診断成績

Vilmann らによって膵腫瘍に対する EUS-FNA の臨床応用が報告されて以来¹⁾, 膵癌の診断における EUS-FNA の有用性については現在までに数多くの報告がある⁷⁾⁸⁾。その診断能については, 総じて感度は 80%以上, 特異度は 100%と報告されている。その一方で陰性的中率は 50

~60%程度との報告が多く, EUS-FNA の結果が癌陰性であっても必ずしも癌を否定出来るわけではないことは, その他の生検手技と同様である。

臨床上で特に問題となるのは, 慢性膵炎と膵癌との鑑別である。背景に慢性膵炎が存在すると, 超音波画像上で腫瘍の存在が不明瞭となるだけではなく, 細胞学的にも炎症による影響が加わり良悪性の鑑別が困難となる⁹⁾。これらの

症例 (65 歳, 女性)



図1 コンパックス型超音波内視鏡 (Olympus 社製, GF-UCT260)



図2 超音波内視鏡像。膵尾部に 42 mm 大の腫瘍を認める。22G の穿刺針を用いて超音波内視鏡下に穿刺を行った。

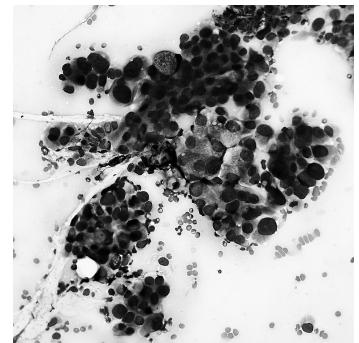


図3 FNA 検体 (Diff-Quik 染色, 200 倍)。核の大小不同と, N/C 比の増大が認められる。

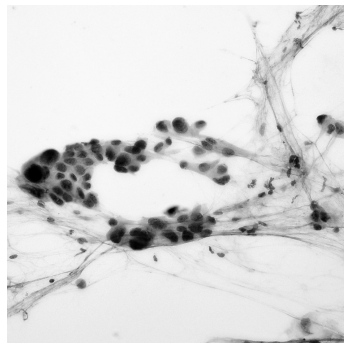


図4 FNA 検体 (Papanicolaou 染色, 400 倍)。大小不同な核と, クロマチンの増加・粗造化が認められる。

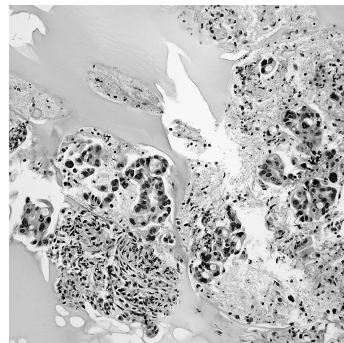


図5 FNA 検体 (Hematoxylin-eosin 染色, 200 倍)。核異型を伴った腫瘍細胞が, 異型腺管構造を伴って増生している。

これらの所見より, 本症例は膵管癌の診断が可能である。

問題点を解決するために、EUS-FNA 検体を用いた遺伝子検索など、診断能向上のための様々な工夫が試みられている¹⁰⁻¹³⁾。また自己免疫性膵炎と膵癌との鑑別も非常に重要であり、EUS-FNA は膵癌を否定する点において有用である。しかしながら通常の穿刺針を用いた EUS-FNA では診断そのものは困難であったり、非特異的炎症に留まることも多い。一方で自己免疫性膵炎の診断において、Tru-cut 針が有用であるとの報告がみられ、この様な場合には診断の助となりうる¹⁴⁾¹⁵⁾。

膵に認められる充実性腫瘍としてその他に重要なものに膵神経内分泌腫瘍 (Pancreatic neuroendocrine tumor: PNET) がある。PNET は病変が小さく腫瘍の局在診断が困難な場合が少なくない。各種画像検査の描出能は CT では感度 14~94% と報告によって大きなばらつきがあり¹⁶⁾¹⁷⁾、オクトレオチドシンチ (本邦では未承認) でも感度 58~86% に過ぎない¹⁸⁾。その一方で EUS は感度 77~94% と報告されており¹⁶⁾¹⁷⁾、とくに直径 25 mm 未満の小病変の局在診断に有用である。さらに EUS-FNA は PNET の病理学的な確定診断が得られる点でも優れている。Ardengh らは膵内分泌腫瘍に対する EUS-FNA の診断能を感度が 82.6%、特異度が 85.7% と報告している¹⁹⁾。また Ginés らは平均腫瘍径 12 mm の病変に対して EUS-FNA の感度が 90% と報告しており²⁰⁾、EUS-FNA は PNET の診断において極めて有用と言える。

診断能向上のコツ

以下に種々の診断能向上のコツを紹介する。

1. 穿刺の工夫

標的病変に対して穿刺する回数が少ないと検体採取率が低下し、診断が得られない可能性がある。その一方で穿刺回数をいたずらに増すと、出血などの合併症の頻度が増すおそれがあるほか、時間やコストなどの問題も生じる。このため最適な穿刺回数について、数々の検証がなされてきた。これらの報告のなかで、膵腫瘍に対する EUS-FNA においては十分な検体量を採取するために 5~7 回の穿刺が望ましいこと

が述べられている²¹⁾²²⁾。これは、後述する On-site での迅速細胞診が利用出来ない場合に、特に有用である。

穿刺に際して良好な検体を採取するために、吸引が望ましいか、非吸引が望ましいかについても議論がある。リンパ節を対象とした検討ではあるが、Wallace らは吸引、非吸引法での EUS-FNA を比較し、診断能自体に有意差は認められないものの、吸引法では血液が多く検体内に混入していたことを述べている²³⁾。一般に、吸引を加えた方が採取される細胞数が増す一方で、血液の混入や吸引によるアーチファクトも増すと考えられている。膵病変に対してはまず吸引法にて EUS-FNA を行い、得られた検体に血液の混入が多く見られたり、得られた細胞に変性がつよい場合には、非吸引で EUS-FNA を行うことも選択肢の一つである。

病変に穿刺を行ったのち、通常 10~20 回、病変の内部で穿刺針を前後させる。この回数について定説はないが、LeBlanc らは膵病変に対しては最低でも 7 回が必要 (診断感度 83%、特異度 100%) と報告している。一方で彼らは、リンパ節に対しては 5 回で十分であると述べている (診断感度 77%、特異度 100%)²⁴⁾。このように穿刺時の前後運動の回数は、目的病変の部位などに応じて考慮をする必要がある。

2. 迅速細胞診

手技そのものの他に FNA の診断能に影響を与える因子として、迅速細胞診の有無が挙げられる。迅速細胞診の利点として、採取検体の量や質について内視鏡手技者と病理医あるいは細胞検査士間でリアルタイムにフィードバックが行われることによって、不必要な穿刺回数を減らし、検査効率を上げることが挙げられる。Klapman らは迅速細胞診の有無と EUS-FNA の診断能について検討を行っている。この中で、同一の内視鏡手技者が EUS-FNA を行い、On-site での迅速細胞診の実施の有無で成績を比較した場合、迅速細胞診のない条件下では有意に検体採取率が低下することを示した²⁵⁾。しかし現実には、細胞検査士が EUS-FNA 検査中に同席することは、時間的、コスト的にも困難なことも

多い²⁶⁾。当院では一日あたりの EUS-FNA の実施数が多いため、検体が得られた場合には、その検体を内視鏡医が細胞検査室へ持参し、迅速細胞診を行ってもらっている。

3. 細胞診と組織診

穿刺によって得られた検体は通常、細胞診用のスメアと、組織診用にホルマリン固定後にパラフィン包埋ブロックが作成される。細胞診による染色法は様々であるが、当院では迅速性にすぐれ、核や細胞質の観察にも優れた Diff-Quik 法を主に用いている。検体をスライドグラスにスメアしたのちに、十分に風乾し固定を行った後に鏡検を行う。検体採取後に直ちに鏡検することで、検体が十分に採取されているか、検体が目的とした病変より採取されているか、悪性細胞が認められるかなどが判断可能である。次いで得られた検体はホルマリン固定後にパラフィン包埋し、セルブロックにするか、十分な検体が得られた場合には組織標本作製する。セルブロックによる標本作製はホルマリン固定に 48 時間を要するために迅速性には欠けるが、得られた検体は包埋・薄切されることで半永久的に保存が可能となり、免疫染色による評価も可能となる。

EUS-FNA における細胞診と組織診の診断能について、直接比較検討した報告もみられ、細胞診の方が得られる腫瘍細胞数が多いことなどから欧米では細胞診を重視する傾向にある。一方、本邦では消化器の領域では一般的に組織診を重視する傾向があり、また免疫組織学的な検討も可能なセルブロックを併用する施設もある。

4. 免疫染色・遺伝子検索

膵には膵管がんだけでなく、内分泌腫瘍や腺房細胞癌、転移性膵癌など様々な腫瘍が認められる。これらの腫瘍の診断は、細胞診や HE 染色だけでは困難なことが多いが、この様な場合には様々な免疫染色が診断の一助となる²⁷⁾。EUS-FNA により得られる検体は切除検体に比べて少量で組織検体としては不十分なこともあるが、セルブロック検体を用いて免疫染色を行うことは十分に可能であり、診断において有用である²⁸⁾。

FNA の診断能向上を目的として、FNA で得られた検体を用い K-ras, p53, p16, Telomerase などの遺伝子検索¹⁰⁻¹³⁾ も試みられている。PCR や PT-PCR, 免疫染色法など、そのアプローチ方法は様々であるが、細胞診やセルブロックによる診断で結果が得られなかった場合には、これら遺伝子変異の有無の情報を加味することで EUS-FNA の診断能向上に有用である。

合併症

EUS-FNA に際しては他の内視鏡検査と同様に、心血管系合併症のほか鎮静剤による合併症、薬剤に対するアレルギー、消化管穿孔などが起こり得る。EUS は構造上、内視鏡先端の硬性部が長いことや前方斜視鏡であることから、通常の内視鏡に比べて穿孔のリスクは高く、その頻度は 0~0.4% と報告されている²⁹⁾³⁰⁾。この他に EUS-FNA 自体に伴う合併症として出血、感染、膵炎、癌の播種などが報告されているが、膵腫瘍を対象とした場合、その頻度は 0~0.6% 程度と ERCP に比し極めて低率である³¹⁾。しかし、膵嚢胞性病変を穿刺する場合には感染の頻度は 9% にまで高くなることが報告されており、手技前からあらかじめ抗生剤投与を行うなど、慎重な対応が必要である。一方、以前より懸念されていた EUS-FNA に伴う播種については、わずかに case report に穿刺ルートに沿った腫瘍の播種の報告が見られる程度であり、その頻度は稀と考えられる³²⁾。

おわりに

膵がんの診断を中心に、EUS-FNA の方法、診断成績、診断能向上のコツ、合併症について述べた。数々の経験を経て EUS-FNA の手技は次第に完成されつつあるが、その応用分野は遺伝子検索や治療分野などさらに広がりをみせている。EUS-FNA の標準的方法が確立され、本手技が上・下部内視鏡検査下の生検と同様に日常臨床に於いて大いに普及することを切望して稿を終える。

文 献

- 1) Vilmann P, Jacobsen GK, Henriksen FW, et al. Endoscopic ultrasonography with guided fine needle aspiration biopsy in pancreatic disease. *Gastrointest Endosc* 1992; 38: 172-173.
- 2) Howes RH, Fockens P. *Endosonography*. Second edition. Saunders, 2010.
- 3) Dietrich CF, Allgayer H, Arcidiacono PG, et al. *Endoscopic Ultrasound: An Introductory Manual and Atlas*. Second edition. Thieme Medical Pub, 2011.
- 4) Siddiqui UD, Rossi F, Rosenthal LS, et al. EUS-guided FNA of solid pancreatic masses: a prospective, randomized trial comparing 22-gauge and 25-gauge needles. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 1093-1097.
- 5) Lee JH, Stewart J, Ross WA, et al. Blinded prospective comparison of the performance of 22-gauge and 25-gauge needles in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of the pancreas and peri-pancreatic lesions. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2274-2278.
- 6) Sakamoto H, Kitano M, Komaki T, et al. Prospective comparative study of the EUS guided 25-gauge FNA needle with the 19-gauge Trucut needle and 22-gauge FNA needle in patients with solid pancreatic masses. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 384-390.
- 7) Eloubeidi MA, Chen VK, Eltoun IA, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy of patients with suspected pancreatic cancer: diagnostic accuracy and acute and 30-day complications. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2663-2668.
- 8) Agarwal B, Abu-Hamda E, Molke KL, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and multidetector spiral CT in the diagnosis of pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 844-850.
- 9) Schwartz DA, Unni KK, Levy MJ, et al. The rate of false-positive results with EUS-guided fine-needle aspiration. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 868-872.
- 10) Maluf-Filho F, Kumar A, Gerhardt R, et al. Kras mutation analysis of fine needle aspirate under EUS guidance facilitates risk stratification of patients with pancreatic mass. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41: 906-10.
- 11) Ogura T, Yamao K, Sawaki A, et al. Clinical impact of K-ras mutation analysis in EUS-guided FNA specimens from pancreatic masses. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 769-774.
- 12) Salek C, Benesova L, Zavoral M, et al. Evaluation of clinical relevance of examining K-ras, p16 and p53 mutations along with allelic losses at 9p and 18q in EUS-guided fine needle aspiration samples of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3714-3720.
- 13) Mishra G, Zhao Y, Sweeney J, et al. Determination of qualitative telomerase activity as an adjunct to the diagnosis of pancreatic adenocarcinoma by EUS-guided fine-needle aspiration. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 648-654.
- 14) Levy MJ, Reddy RP, Wiersema MJ, et al. EUS-guided trucut biopsy in establishing autoimmune pancreatitis as the cause of obstructive jaundice. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 467-472.
- 15) Mizuno N, Bhatia V, Hosoda W, et al. Histological diagnosis of autoimmune pancreatitis using EUS-guided trucut biopsy: a comparison study with EUS-FNA. *J Gastroenterol* 2009; 44: 742-750.
- 16) Gouya H, Vignaux O, Augui J, et al. CT, endoscopic sonography, and a combined protocol for preoperative evaluation of pancreatic insulinomas. *Am J Roentgenol* 2003; 181: 987-992.
- 17) Ardengh JC, Rosenbaum P, Ganc AJ, et al. Role of EUS in the preoperative localization of insulinomas compared with spiral CT. *Gastrointest Endosc* 2000; 51: 552-555.
- 18) Zimmer T, Stölzel U, Bäder M, et al. Endoscopic ultrasonography and somatostatin receptor scintigraphy in the preoperative localisation of insulinomas and gastrinomas. *Gut* 1996; 39: 562-568.
- 19) Ardengh JC, De Paulo GA, Ferrari AP, et al. EUS-guided FNA in the diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors before surgery. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 378-384.
- 20) Ginés A, Vazquez-Sequeiros E, Soria MT, et al. Usefulness of EUS-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the diagnosis of functioning neuroendocrine tumors. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 291-296.
- 21) Erickson RA, Sayage-Rabie L, Beissner RS, et al. Factors predicting the number of EUS-guided fine-needle passes for diagnosis of pancreatic malignancies. *Gastrointest Endosc* 2000; 51: 184-190.
- 22) LeBlanc JK, Ciaccia D, Al-Assi MT, et al. Optimal

- number of EUS-guided fine needle passes needed to obtain a correct diagnosis. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 475-481.
- 23) Wallace MB, Kennedy T, Durkalski V, et al. Randomized controlled trial of EUS-guided fine needle aspiration techniques for the detection of malignant lymphadenopathy. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 441-447.
- 24) LeBlanc JK, Ciaccia D, Al-Assi MT, et al. Optimal number of EUS-guided fine needle passes needed to obtain a correct diagnosis. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 475-481.
- 25) Klapman JB, Logrono R, Dye CE, et al. Clinical impact of on-site cytopathology interpretation on endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1289-1294.
- 26) Layfield LJ, Bentz JS, Gopez EV. Immediate on-site interpretation of fine-needle aspiration smears: a cost and compensation analysis. *Cancer* 2001; 93: 319-322.
- 27) Hruban RH, Pitman MB, Klimstra DS. Tumors of the pan-creas. *AFIP atlas of tumor pathology*, 4th Series, Fascicle 6. Washington, DC: American Registry of Pathology, 2007.
- 28) Imaoka H, Yamao K, Bhatia V, et al. Rare pancreatic neoplasms: the utility of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration-a large single center study. *J Gastroenterol* 2009; 44: 146-153.
- 29) O'Toole D, Palazzo L, Arotçarena R, et al. Assessment of complications of EUS-guided fine-needle aspiration. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 470-474.
- 30) Wiersema MJ, Vilmann P, Giovannini M, et al. Endosonography-guided fine-needle aspiration biopsy: diagnostic accuracy and complication assessment. *Gastroenterology* 1997; 112: 1087-1095.
- 31) Eloubeidi MA, Gress FG, Savides TJ, et al. Acute pancreatitis after EUS-guided FNA of solid pancreatic masses: a pooled analysis from EUS centers in the United States. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 385-389.
- 32) Shah JN, Fraker D, Guerry D, et al. Melanoma seeding of an EUS-guided fine needle track. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 923-924.

著者プロフィール



今岡 大 Hiroshi Imaoka

所属・職：愛知県がんセンター中央病院消化器内科・医長

略 歴：2000年3月 神戸大学医学部卒業

専門分野：消化器内科

主な業績：Imaoka H, Ishihara S, Kazumori H, et al. Exacerbation of indomethacin-induced small intestinal injuries in Reg I-knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: 311-319.