

Title	Novel approach for detection of isolated tumor cells in pulmonary vein using negative selection method : morphological classification and clinical implications
Author(s)	舟木, 壮一郎
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58948
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	舟木 壮一郎
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 24891 号
学位授与年月日	平成 23 年 9 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	Novel approach for detection of isolated tumor cells in pulmonary vein using negative selection method: morphological classification and clinical implications (肺癌患者の肺静脈血液中における遊離癌細胞の新規同定法について；その形態学的分類と臨床的意義)
論文審査委員	(主査) 教授 奥村明之進 (副査) 教授 猪原 秀典 教授 富山 憲幸

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

肺癌は現在、先進国において癌死因の主要な原因であり、それは比較的早期であっても半数以上が転移、再発することが一因になっており、その再発予測因子の開発は重要な課題である。また、肺癌も含めたあらゆる癌患者において、血液中、骨髄中など主病変と離れた臓器から癌細胞（遊離癌細胞）が検出されることが古くから報告されてきた。しかし、今まではその検出法や精度などには限界があり、臨床的な意義については不明な点も多かった。最近になり、技術進歩に従って、様々な検出方法が開発され、臨床的背景との関係が本格的に調べられるようになった。その方法として、CEAのmRNAをRT-PCR法を用いることにより間接的に癌細胞を調べたり、Ep-CAMなど特定の上皮マーカーをターゲットにし、癌細胞を自動的に検出する機械などが開発され、あらゆる固形癌において血中遊離癌細胞と予後、再発との相関関係の報告が散見されるようになった。これは、主病変からこぼれた癌細胞が血中に流れ、全身を循環し、遠隔転移の原因になると考えられているが、実際に生体内での詳細な転移発症のメカニズムは不明な点も多い。また、このような報告例のほとんどは、遊離癌細胞の有無とその検出数との相関関係を論じた定量的検討が中心で、その定性的検討をなされている研究は少ない。今回我々は、肺癌術後切除肺の肺静脈から採取した血中の遊離癌細胞の新しい同定法とその形態学的観点から臨床的意義について検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

遊離癌細胞の同定方法として、白血球共通抗原（CD45）に対する抗体（RosetteSep®

Human CD45 Depletion Cocktail (Stemcell Technologies, Inc)) と比重遠心法を利用した。まず全血液にこの抗体を加え、白血球のロゼットを形成させ、比重遠心法にて、赤血球とともに沈殿させ、中間層の上皮系細胞のみを分離、濃縮し (CD45-negative selection法)、Papanicolaou methodにて遊離癌細胞を同定した。同定できた癌細胞は、病理形態学的にUICCでの遊離癌細胞 (isolated tumor cell:ITC) 分類を参考にcluster形成の有無を中心に single tumor cellsとsmall cluster (<0.2nm)、Bulky cluster (≥0.2nm)、No tumorに分類し、その結果を臨床的背景、予後についての相関関係を検討した。

対象は2008年8月から2010年1月までの期間に、当科にて原発性肺癌症例で肺葉または区域切除した94症例 (平均年齢67.7歳、男:女56:38) について検討した。術後病理組織結果は腺癌 71例 扁平上皮癌 14例 その他は9例であった。術後病期はI期:II期:III/VI期= 75:13:6であった。

手術手技は1肺葉切除が80例、2肺葉切除は3例、区域切除の11例で、その際採取した肺静脈血1mlから上記方法にて遊離癌細胞を検出した。結果は94例中68例(72%)で遊離癌細胞が認められた。その内cluster形成をとっていたものは35例(37%)でsingle tumor cellsのみは33例(35%) No tumorは26例であった。再発との相関を調べたところ、観察期間中央値13ヶ月(6ヶ月-22ヶ月)において、94例中16例で再発を認め、その内cluster形成群が14例、single tumor cells群が1例、No tumor群が1例と有意にcluster形成群の再発率が多かった ($p < 0.05$)。無再発生存期間においてもcluster群において有意に不良であった。男女、年齢(70歳以上、未満)、組織病理、病理病期、遊離癌細胞の形態学的分類(clusterの有無)、各項目を変数として単変量、多変量解析にて検討を行ったところ、遊離癌細胞のcluster形成の有無と病理病期が有意で、独立した予後因子であることが認められた。

[総 括]

本研究から、肺癌症例において、肺静脈血中の癌細胞は単一細胞単位だけでなく、cluster形成をとって存在していることがわかった。また静脈血内の遊離癌細胞は、その存在だけでなく、形態学的特徴であるcluster形成の有無も再発予測因子となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

上記学生は、当教室において「肺癌患者の肺静脈血液中における遊離癌細胞の新規同定法について；その形態学的分類と臨床的意義」に関する研究について従事しました。本研究は、肺癌手術症例において切除肺の肺静脈血から遊離癌細胞を検出する新たな法を開発し、遊離癌細胞には形態的存在があること、さらに遊離癌細胞の形態的特徴が病理学的背景および予後とも関連することを明らかにしたものです。本研究の結果は、肺癌の個別化医療への応用を通して肺癌の治療成績の向上に貢献することが期待され、肺癌臨床に携わる呼吸器外科の観点から興味深い研究成果であります。また、肺癌以外の他臓器の悪性腫瘍の治療にも応用・発展が期待されます。以上より、学位授与に相当する価値ある研究と考えます。