



Title	Prognostic value of tumor cell DNA content determined by flow cytometry using formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer tissues
Author(s)	日馬, 弘貴
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76445
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	日馬 弘貴
論文題名 Title	Prognostic value of tumor cell DNA content determined by flow cytometry using formalin-fixed paraffin-embedded breast cancer tissues (ホルマリン固定パラフィン包埋乳癌組織より単離しフローサイトメトリーで測定した腫瘍細胞DNA含有量の予後因子としての意義)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕	
<p>Flow cytometer (FCM) を用いたDNA index (DI) 解析は、乳癌の悪性度の指標としてその臨床応用が長年検討されてきた。しかし、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織を用いたFCM解析は、新鮮凍結組織を用いたFCM解析に比して精度が低く、従って日常診療で作成するFFPEがFCM解析に使用できないことが臨床応用の大きな妨げとなっている。そこで、我々は、抗cytokeratin抗体と抗vimentin抗体を用いたFCM解析によってFFPE組織から腫瘍細胞と間質細胞由来の核を分離し、それぞれの成分のG0/G1 peakを求めその比 (DI) を算出することによって、免疫染色を用いない場合に比して、より正確に腫瘍細胞のDIを測定することが可能と考え、まずその測定方法を確立し、次に本法で得られたDIの臨床的意義 (特に予後因子としての意義) を検討した。</p>	
〔方 法(Methods)〕	
<p>1994年から2010年の間に当科で術前治療なしに手術が施行された浸潤性乳癌290症例を対象とした。薄切したFFPEサンプルから腫瘍部位を切り出し、脱パラフィン、親水化、抗原賦活化を経たのちに、collagenaseとdispaseによる酵素処理で核を分散した。抗cytokeratin抗体 (CK)、抗vimentin抗体 (VIM)、DAPIによる染色を行い、FCMで腫瘍細胞と間質細胞に分離しDIを算出した (腫瘍細胞のG0/G1 peakと間質細胞のG0/G1 peakの蛍光強度の比)。またG0/G1 peakを2つ以上認める症例をmultiploidとしその臨床的意義も検討した。</p>	
〔成 績 (Results)〕	
<p>DIの分布は明確な二峰性を示しており、DI = 1.26を容易にcutoffとして設定できた。DI 1.26未満をlow-DI、DI 1.26以上をhigh-DIとするとhigh-DIは組織学的グレード3、腫瘍浸潤リンパ球>40%、ER陰性、Ki67>20%、術後化学療法ありと有意に相関した。また予後との相関を見ると、全症例、HR+/HER2-症例においてhigh-DIは有意に遠隔転移再発が多かった。多変量解析において全症例、HR+/HER2-症例ともにリンパ節転移、Ki67、DIが独立した予後因子となった。DIとKi67を組み合わせるとlow-DIかつlow-Ki67は特に再発が少なかった。MultiploidはHER2+、TNBC症例に多く認められ、組織学的グレード3、腫瘍浸潤リンパ球>40%、ER陰性、PR陰性、HER2陽性、Ki67>20%、術後化学療法ありと有意に相関したが、予後との相関は見られなかった。</p>	
〔総 括(Conclusion)〕	
<p>乳癌細胞のDIは独立した遠隔転移再発の指標となり、特にKi67と組み合わせると遠隔転移再発の予測において有用な指標となる可能性が示唆された。Multiploidは悪性度の高い表現型と相関を示したが予後との相関を示さなかった。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 日馬 弘貴	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 土岐 祐一郎
	副 査 大阪大学教授 新谷 康
	副 査 大阪大学教授 猪俣 孝典
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本研究ではFlow cytometer (FCM) を用いて腫瘍細胞のDNA index (DI) を測定し、DIを2群に分けるcut offを設定した。High DIは独立した遠隔転移再発の指標となり、特にKi67と組み合わせると遠隔転移再発の予測において有用な指標となる可能性が示唆された。さらに臨床的な意義が不明瞭であるとされるmultiploidについても検討を行い、臨床病理学的因子との関連はあるが予後との関連はなかったことを明らかにした。</p> <p>本研究はDIが既存の臨床病理学的因子とは別の独立した予後因子であることを明らかにしたものであり、予後予測や乳癌術後化学療法の有無、治療薬選択に寄与する可能性を示したものとして評価される。よって審査の結果、本論文の筆者は、博士(医学)の学位授与に値する。</p>	