

【4】

氏 名	井 上 尚 <small>いの うえ たかし</small>
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第703号
学位授与の日付	平成30年3月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (呼吸器外科学)
学位論文題目	Mitosis count and number of cancer cells in cases of primary pulmonary adenocarcinoma – correlations among phosphorylated histone 3, number of cancer cells, nuclear grade, pathologic features and prognosis (原発性肺腺癌における核分裂像と癌細胞数の検討－pHH3染色による核分裂像と癌細胞数、核異型度、病理像と予後との関連)
論文審査委員	(主査) 教授 福 田 宏 嗣 (副査) 教授 釜 井 隆 男 教授 川 又 均

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

肺腺癌は肺癌で最も多い組織型であり、肺腺癌の各種組織型は予後と関連するとされている。近年先行研究のごとく肺腺癌における核異型と予後との関連を指摘した報告を認める。またKi-67を用いた核分裂像と予後は関連するとされているが、脳腫瘍の分野で臨床応用されているphosphorylated histone 3 (pHH3) による核分裂像評価と肺腺癌の予後を評価した報告はない。同様に癌細胞密度と予後を評価した報告はない。

【目 的】

2 cm以下の小型肺腺癌において、核異型と予後との相関を再検討し、pHH3染色を用いた厳密な核分裂像および癌細胞密度、pHH3陽性細胞密度と予後との関連を検討する。

また癌細胞密度とWorld health organization (WHO) 病理組織分類および野口分類との相関を検討する。

【対象と方法】

2006年1月から2010年12月までに獨協医科大学病院呼吸器外科で手術した2 cm以下の肺腺癌113症例を対象とした。本研究は獨協医科大学生命倫理委員会の許諾を得て行った (#28147)。全症例の予後調査を2017年9月に行った。

腫瘍の最大断面をhematoxylin and eosin (HE) 染色およびKi-67、pHH3染色を行った。HE染色検体についてはNanoZoomerを用いてvirtual slideとし、核異型およびWHO病理組織分類、野口分類、腫瘍面積、癌細胞数を計測した。Ki-67およびpHH3検体はオリンパスBX53を用いて鏡検し評価した。臨床病理学的項目と組織学的所見の関連をフィッシャーの直接確立法およびWilcoxon検定で解析した。臨床病理学的項目と核異型、pHH3核分裂像との解析にはF検定、Student-t検定、Tukey検定を用いた。Receiver operating characteristic曲線を用いてカットオフ値を測定した。全生存期間および無再発生存期間の検討はKaplan-Meier法を用いて行い、群間比較をログランク検定で行った。多変量解析はコックス比例ハザード生存モデルを用いた。項目間の相関はピアソンの相関係数を用いて検討した。P<0.05を有意とした。

【結 果】

術後平均観察期間は5.7年であった。核異型陽性は核異型陰性と比較し、無再発生存期間（8.6年vs. 10.8年, p<0.01）、全生存期間（7.3年vs. 8.4年, p=0.037）ともに予後不良であった。腫瘍内pHH3陽性細胞は平均32.8個、腫瘍内癌細胞数は平均67,605個であった。1mm²当たりの癌細胞数が1000個以上は、1000個未満と比較し、無再発生存期間（5.42年vs. 10.6年, p<0.001）、全生存期間（5.95年vs. 8.14年, p<0.001）ともに不良であった。1mm²当たりのpHH3陽性細胞数が0.27個以上は、0.27個未満と比較し、無再発生存期間（7.73年vs. 10.8年, p<0.001）、全生存期間（6.95年vs. 8.46年, p=0.001）ともに不良であった。pHH3陽性細胞数／癌細胞数が0.001以上は、0.001未満と比較し、無再発生存期間（5.86年vs. 9.92年, p<0.001）、全生存期間（5.74年vs. 7.97年, p=0.002）ともに不良であった。

Ki-67 indexが11.3以上は、11.3未満と比較し、無再発生存期間（7.97年vs. 10.3年, p=0.005）、全生存期間（7.15年vs. 8.08年, p<0.001）ともに不良であった。

多変量解析ではpHH3陽性細胞数／癌細胞数は、無再発生存期間に相関した（Hazard ratio 3.505）。同様に、pHH3陽性細胞数／癌細胞数とWHO病理組織分類が、全生存期間と相関した（Hazard ratio 2.445, 11.379）。また、癌細胞密度と野口分類（相関係数0.519）、WHO病理組織分類（相関係数0.436）はそれぞれ相関を認めた。

【考 察】

本研究ではpHH3陽性細胞数／癌細胞数が、無再発生存期間、全生存期間において予後因子とされた。

WHOは脳腫瘍（星状細胞腫）では核分裂の評価を行うことを推奨しており、消化管間質腫瘍でも核分裂像が再発や予後と相関するとされている。一般的に核分裂像の評価はKi-67 indexで行われており、肺腺癌においてもI期の肺腺癌においてKi-67 indexと無再発生存期間が関連するとの先行報告もある。今回我々は、より核分裂像の評価としては鋭敏であるpHH3染色を用いて評価した。pHH3染色を用いた核分裂像と予後との評価では脳腫瘍や悪性黒色腫、子宮平滑筋腫、肺神経内分泌腫瘍において予後と相関するとの報告を認める。本研究では1mm²当たりのpHH3陽性細胞が0.27個以上は、0.27個未満と比較し予後不良であった。

本研究では腫瘍最大断面における癌細胞数を測定し、癌細胞の密度を測定した。肺腺癌においては

同様の研究を行った報告はない。本研究では 1mm^2 当たりの癌細胞数が1000個以上は、1000個未満と比較し予後不良であった。また同様に癌細胞数と野口分類、WHO病理組織分類との間に相関関係を認めた。

本研究ではpHH3陽性細胞数／癌細胞数も検討した結果、pHH3陽性細胞が1000癌細胞に1つでもある場合は予後不良であることが示された。多変量解析では無再発生存期間ではpHH3陽性細胞数／癌細胞数が相関する結果であった。同様に全生存期間ではpHH3陽性細胞数／癌細胞数とWHO病理組織分類が相関する結果となった。

【結 論】

小型肺腺癌において核異型は予後と相関した。pHH3染色を用いた核分裂像評価および癌細胞密度は予後と相関しており、pHH3陽性細胞数／癌細胞数は予後と強い相関を認めた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

申請論文は、2 cm以下の小型肺腺癌に対し手術検体においてphosphorylated histone 3 (pHH3)による核分裂細胞数と、hematoxylin and eosin (HE) 染色による癌細胞数、腫瘍面積が、肺腺癌の予後の評価に対し、有用か否かを後方視的に検討したものである。また癌細胞密度とWorld Health Organization (WHO) 病理組織分類および野口分類との相関を検討している。 1mm^2 当たりの癌細胞数が1000個以上は、1000個未満と比較し、無再発生存期間、全生存期間ともに不良であった。また 1mm^2 当たりのpHH3陽性細胞数が0.27個以上は、0.27個未満と比較し、無再発生存期間、全生存期間ともに不良であった。同様にpHH3陽性細胞数／癌細胞数が0.001以上は、0.001未満と比較し、無再発生存期間、全生存期間ともに不良であった。多変量解析ではpHH3陽性細胞数／癌細胞数は、無再発生存期間に相関した (hazard ratio 3.505)。同様に、pHH3陽性細胞数／癌細胞数とWHO病理組織分類が、全生存期間と相関した (hazard ratio 2.445, 11.379)。また、癌細胞密度と野口分類 (相関係数0.519)、WHO病理組織分類 (相関係数0.436) はそれぞれ相関を認めた。以上より、本研究において小型肺腺癌におけるpHH3陽性細胞数／癌細胞数は予後予測因子となりうることを示されたと結論づけている。

【研究方法の妥当性】

申請論文は、獨協医科大学病院呼吸器外科において2006年1月から2010年12月に2 cm以下の原発性肺腺癌にて肺切除術を施行した症例113例を対象とし、腫瘍の手術検体においてHE染色およびpHH3染色を施行しvirtual slide systemを用いて腫瘍面積や癌細胞数、pHH3陽性細胞数を評価して検討している。組織分類についてはWHO分類および野口分類に則り分類して検討し、予後の解析は全生存期間および無再発生存期間を用いている。研究方法としては、当該分野の過去の知見から考えても、妥当であると考えられる。

【研究結果の新奇性・独創性】

これまでKi-67を使用した核分裂像と肺腺癌の予後との関連を指摘した報告は認めているが、pHH3

染色を用いた厳密な核分裂像と肺腺癌の予後との関連を指摘した報告は認めない。また腫瘍最大断面における癌細胞数を測定した報告も認めない。本研究では、手術症例を対象とした研究で、全生存期間および無再発生存期間に注目し、receiver operating characteristic曲線により導き出したカットオフ値を用い、pHH3陽性細胞密度および癌細胞密度、癌細胞中のpHH3陽性細胞比率が予後を反映するとしており、新奇性、独創性が高いものと評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、小型肺腺癌に対するpHH3染色を用いた免疫染色は予後予測因子として有用であり、癌細胞密度も予後予測因子として有用であると結論している。これは小型肺腺癌の治療を行う上で大変意義深い研究と評価できる。

【当該分野における位置付け】

申請論文は、pHH3染色および癌細胞密度による肺腺癌の悪性度の予測に関し重要な知見を得ている。これは、肺腺癌の治療を行う上で大変意義深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は呼吸器外科専門医の資格を有しており、呼吸器外科学の実践を学び、日本病理学会に所属し研鑽を積みつつ本研究の立案・遂行し、貴重な知見を得ている。その成果はインパクトファクターを有するPathology Internationalに掲載されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は、独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野に対する貢献度も高い。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判定した。

（主論文公表誌）

Pathology International

68 : 159-166, 2018