

氏 名 ・ (本籍)	寺田 かおり (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 947 号
学位授与の日付	平成 29 年 9 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科 ・ 専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Novel rapid-immunohistochemistry using an alternating current electric field for intraoperative diagnosis of sentinel lymph nodes in breast cancer (電界非接触攪拌技術を用いた乳癌におけるセンチネルリンパ節の術中迅速診断)
論文審査委員	(主査) 教授 寺田 幸弘 (副査) 教授 眞鍋 求 教授 後藤 明輝

学位論文内容要旨

論文題目

Novel rapid-immunohistochemistry using an alternating current electric field for intraoperative diagnosis of sentinel lymph nodes in breast cancer

(論文題目の和訳)

電界非接触攪拌技術を用いた乳癌におけるセンチネルリンパ節の術中迅速診断

申請者氏名 寺田 かおり

研究目的

乳癌の腋窩リンパ節転移診断は、予後予測因子として、また、全身療法の決定において非常に重要な役割を果たしている。センチネルリンパ節の術中迅速診断には OSNA 法 (One-step nucleic acid amplification) や HE (Hematoxylin and eosin) 染色が用いられている。OSNA 法は分子生物学的方法で、低い偽陰性率と高い感度でその有用性が示されている一方で、HE 染色は偽陰性率が高いことが指摘されている。HE 染色に免疫組織化学を追加することで検出率は上昇するが、標準的な方法では 2~4 時間を要し、術中迅速診断に用いることは難しい。我々は、20 分以内で免疫染色を可能にする、電界非接触攪拌技術を用いた迅速免疫組織染色法 (R-IHC: rapid immunohistochemistry) を開発した。センチネルリンパ節の術中迅速診断時に R-IHC を用い、有用性について検討した。

研究方法

2014 年 7 月から 2017 年 1 月までに当院で手術を施行した、臨床的に腋窩リンパ節転移を認めない乳癌患者 108 人から採取したセンチネルリンパ節 160 個を対象とした。術中迅速診断では凍結切片で HE 染色と R-IHC による cytokeratin 染色を行ない、最終診断での HE 染色と通常法の免疫組織化学による cytokeratin 染色とを比較した。

研究成績

108 人中、浸潤性乳管癌は 74 人 (68.5%)、非浸潤性乳管癌は 20 人 (18.5%) であり、術前化学療法施行例を 9 人 (8.3%) 認めた。R-IHC は術中に 16 分で行われ、病理診断を含めて約 20 分以内で可能であった。160 リンパ節中、最終病理診断で転移は 20 個でみられ、術中迅速診断の HE で検出不能、R-IHC でのみ転移が検出されたものが 4 個 (20%) あった。浸潤性小葉癌において、R-IHC により macro metastases が明らかになった症例が 1 例存在した。HE 染色のみでは検出困難な micro metastases の症例が 3 例存在した。R-IHC の感度、特異度、正診率は 95.2%、100%、99.4%であった。

結論

本検討において、R-IHC は HE 染色より高い検出率を示し、最終病理診断にほぼ一致する結果となった。HE 染色では検出不能な微小転移や、小型癌細胞のびまん性転移が判定困難な症例で R-IHC は有用性を示した。乳癌のリンパ節転移に関しては、微小転移は予後や手術方法、術後補助療法の決定に影響を及ぼさないとされており、センチネルリンパ節生検で術中に微小転移を見出す必要性に乏しいことが言われている。しかし、R-IHC は分子生物学的方法に比べコストが 4 分の 1 以下であり、また免疫染色に要する抗体量も削減できる可能性があることから、正確な診断のために追加する意義はあるものと思われる。また、HE 染色では検出困難な転移巣を、免疫染色を加えることにより簡便に判定できるため、病理医の診断に要する時間、労力も削減できる。本方法は組織学的診断のため、形態的評価が可能であること、病理標本が残ることでリンパ節転移の有無のみならず、必要に応じて転移巣のバイオロジーに関する追加検討などが可能なこと、cytokeratin 陽性組織 (子宮内膜の腋窩リンパ節への迷入など) による偽陽性を防ぐことができるということなども利点として挙げられる。今後、予後の追跡も含め更なる検討が望まれるが、R-IHC は乳癌におけるセンチネルリンパ節生検の術中迅速診断法の一つとして精度向上に貢献する可能性が示唆された。

学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主 査： 寺田 幸弘

申請者：寺田 かおり

論文題名

英文：Novel rapid-immunohistochemistry using an alternating current electric field for intraoperative diagnosis of sentinel lymph nodes in breast cancer (和訳：電界非接触攪拌技術を用いた乳癌におけるセンチネルリンパ節の術中迅速診断)

要旨

著者の研究は、論文内容要旨に示すように、乳癌のセンチネルリンパ節生検に、著者らが開発した電界非接触攪拌技術による迅速免疫組織染色法 (R-IHC: rapid immunohistochemistry) を用いて術中迅速診断における有用性を検討したものである。当院で手術を施行した、臨床的に腋窩リンパ節転移を認めない乳癌患者 108 人から採取したセンチネルリンパ節 160 個を対象とし、術中迅速診断では凍結切片で HE 染色と R-IHC による cytokeratin 染色を行ない、最終診断での HE 染色と通常法の免疫組織化学による cytokeratin 染色とを比較した。R-IHC の感度、特異度、正診率は 95.2%、100%、99.4% であった。

本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

1) 斬新さ

センチネルリンパ節の術中迅速診断では、病理組織学的方法として HE (Hematoxylin and eosin) 染色が用いられている。HE 染色は偽陰性率が高いことが指摘されていて、免疫染色を追加すると微小転移の検出率は向上するという報告はあるものの、その追加の意義は定かではない。また、標準的な方法では、2~4 時間を要し、術中迅速診断に用いることは難しいとされてきた。著者らが開発した R-IHC は、20 分以内で免疫組織化学染色を可能にするものであり、これを導入することにより術中の免疫染色による補助診断を可能にする。本研究の斬新性は、乳癌におけるセンチネルリンパ節の術中迅速診断に R-IHC を初めて応用し、術中 HE に免疫染色を追加してその有用性を検討したことにある。

2) 重要性

今回の検討により R-IHC の有用性が指摘された点を以下に述べる。①免疫染色の追加により、鏡検の際に病変の指摘が簡便となり、診断に要する時間・労力が軽減されること。②免疫染色に必要な抗体量の削減が可能で、低コストで実施可能であること。③ HE のみでは検出困難な micro metastases の症例が比較的多く検出されたこと。④術中迅速診断の HE で検出不能な小葉癌など小型細胞の macro metastases を検出し得たこと。

①②に関しては、罹患数の多い乳癌診療にとって必要な条件であると判断される。③に関しては、術前化学療法後症例の予後に関わる可能性があるため、micro metastases を検出する意義は未だに残されているため意義はあると判断される。④に関しては、術中 HE のみでは偽陰性となる、診断が困難な macro metastases を術中に正確かつ迅速・簡便に診断できるため、メリットが大きいと考えられる。

以上より、R-IHC の追加は、乳がん診療のなかで、その臨床診断の向上に貢献すると判断される。

3) 実験方法の正確性

本研究は臨床研究であり、患者の抽出、データの解析等正確に施行されていると考えられる。R-IHC の染色の正確性、有用性に関しては更なる検討が必要であると考えられる。しかし、既に申請者らのグループが肺腫瘍、脳腫瘍などの標本を用い、その正確性に一定の見解は得られている。

4) 表現の明瞭さ

これまでの問題点の解決、R-IHC の有用性を明らかにするための研究目的、方法、実験結果、考察を明瞭に記載していると考ええる。

システミックな多施設臨床研究などもふくめ今後の医療の実質的な向上に貢献できる可能性がある貴重な研究でと考える。

以上より、本論文は本学医学博士の学位を授与するに十分値する仕事の精華であると判断します。