

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第	485号	学位申請者	野田昌宏
審査委員	主査	谷本 昭英	学位	博士 (医学)
	副査	古川 龍彦	副査	吉浦 敬
	副査	黒野 祐一	副査	上野 真一
<p>主査および副査の5名は、平成30年7月2日、学位申請者 野田 昌宏 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) バイオマーカー候補蛋白7種類のうち、VEGFを除外してNrf2を候補に入れたのはなぜか。 回答) Okumuraらのレビュー論文でVEGFが化学放射線療法の効果予測因子として結果が出ている論文は1つのみである。またNrf2は当教室の研究結果で有用であり、Nrf2を選択した。</p> <p>質問2) 転移リンパ節への組織学的効果との比較はどうだったか。 リンパ節でも原発巣の治療効果と関連した結果が得られたが、原発巣とリンパ節への治療効果に乖離がみられた症例もあり、さらなる検討が必要と考える。</p> <p>質問3) 組織学的効果のGrade2とGrade3とを別々に検討したらどのような結果になるか。 回答) Grade1とGrade2, Grade1とGrade3を比較すると、類似した結果となったが、Grade2とGrade3の間には明らかな差は認められなかった。</p> <p>質問4) 腫瘍組織の分化度と組織学的効果との関連はあるか。 回答) 分化度と組織学的効果との関連は認められなかった。中分化扁平上皮癌が半数以上を占めており、これが差が出にくかった一因と考えられる。</p> <p>質問5) 本研究で検討した7種類の蛋白の他に検討した蛋白はあるか。 回答) 本研究では7種類以外には検討していない。今後も新たなバイオマーカーを模索していくことが重要であると考えられる。</p> <p>質問6) 患者にはStage I～IVが含まれているが、どのように選択したか。 回答) 治療前病期を問わず同一レジメンで化学放射線療法を受けた後に手術を行い、臨床研究のインフォームドコンセントを文書で得ている患者を選択した。</p> <p>質問7) 術前化学放射線療法後に手術を行わなかった症例はあるか。 回答) 治療を行なったが腫瘍が増悪し、手術不能になった例や術前治療の副作用により手術不能になった例が少数で見られた。</p> <p>質問8) 免疫染色の評価は二人の検者で行なっているが、一致率はどの程度か。 回答) およそ9割で一致していた。</p> <p>質問9) 臨床応用していくことを考慮した場合、本研究結果の再現性はあるのか。また定量的評価を考慮しているか。 回答) p53やERCC1は染まり方が均一であったため、再現性も保たれると考えられる。本研究は免疫染色での陰性を評価しているため、定量的評価は今後の検討課題と考える。</p> <p>質問10) 選別された3種類の蛋白陰性数と予後とは関連しているという結果となったが、本研究において選別されなかった他の分子を組み合わせた場合はどのような結果となるか。</p>				

回答) 文献的には p53 と CDC25B とを組み合わせた報告は認められた。本研究で選別されなかった分子との組み合わせが、今回選別された 3 分子以上の結果にはならなかった。

質問 1) 1) 免疫組織染色の評価のために用いた生検組織の大きさはどの程度か。

回答) およそ 5mm 程度の組織片であった。

質問 12) それぞれの分子で癌部と正常部での発現に相関はあるか。

回答) p53, p53R2 陽性例では癌部と正常部に明らかな差が認められた。CDC25B や 14-3-3sigma に関しては正常部にも発現が認められるものも多かった。

質問 13) p53 の発現が null の場合をどう評価するか。何かいいアイデアがあるか。

回答) 免疫染色では p53 の null mutation の評価は困難と考えられる。進行癌で p53 陽性細胞が 0% もしくは 60~100% の組織のうち、94% に遺伝子変異が存在するという報告がある。進行癌で p53 陽性細胞が 0% のものには遺伝子解析が必要と考える。

質問 14) p53R2 は野生型 p53 により誘導されるため、治療前の状態で染色されることはないと考えられる。ERCC 1 でも癌部で発現が高まっているのはどういう理由か。

回答) 癌部での ERCC1 発現が、プラチナ製剤による化学療法の耐性や放射線療法への感受性と関与しているという報告は多数認められたが、癌部に発現が高まっている理由については不明である。

質問 15) ERCC1 は DNA 修復因子であり、腫瘍での ERCC1 陰性例が、予後が良い理由に対する考察は何か。

回答) 癌部での ERCC1 の過剰発現は、特にプラチナベースの化学療法の治療ではプラチナ-DNA 付加化合物を除去するためである。また放射線療法で放射線により損傷された DNA を修復することにより治療耐性を生じると考えられる。

質問 16) 免疫染色での陰性の判定は難しいと考えられるが、評価・判定をどのように行っていくか。

回答) 免疫染色の感度を高めることが最も重要であると考えられる。抗体の選択・染色方法を安定させることは当然として、評価法では客観的評価法との比較評価が重要であると考えられる。

質問 17) 食道癌に関して何種類の遺伝子を調べればよいか。

回答) 20 遺伝子~30 遺伝子に絞ると理想的であると考えられる。

質問 18) 免疫染色は LSAB 法で行なっているが、その方法を選択した理由は何か。

回答) 報告された論文の手法を参考にし、また当科での過去の免疫染色方法を踏襲した。

質問 19) 化学放射線治療後の病理診断は一人の病理医で標準化されたものなのか。

回答) 2 人の外科医により本研究で用いた全ての組織をレビューし、病理医に相談しながら標準化されたものである。

質問 20) 治療効果判定の問題点について

回答) 腫瘍浸潤で起こる線維化と化学放射線療法後の壊死により起こる線維化との区別は現判定法では困難である点が問題と考えられる。

質問 21) Metallothionein を外した理由は何か。

回答) 食道癌以外の癌腫においても Metallothionein の報告数が少なかったため、今回は検討より除外した。

質問 22) 免疫組織化学の陰性評価は非常に慎重に吟味する必要があると考えられるが、特に positive control, negative control をどのように設定したか。

回答) 以前の染色で陽性と判断した標本を一つと抗体のデータシートに記載してある組織標本を positive control として使用した。negative control は 1 次抗体を添加していない抗体希釈液を用いた。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。