

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 255 号	学位申請者	萩原貴彦
審査委員	主査	黒野祐一	学位
	副査	小宮節郎	副査
	副査	高尾尊身	副査
			博士 (医学)
			谷本昭英
			堂地 勉

主査および副査の5名は、平成 25 年 9 月 18 日、学位申請者 萩原貴彦君に面接し、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。

質問 1) リンパ節を分割し、HE 染色、免疫染色、RT-PCR に使用しているが、たまたま片方にのみ転移がある可能性はあるか。

(回答) 癌細胞は輸入リンパ管より辺縁洞に流入してくる。微小転移巣の場合、リンパ節を分割することにより片方の辺縁洞に偏在する可能性はある。

質問 2) 乳癌では微小リンパ節転移は予後因子にならないが、消化器癌の場合、微小転移は予後因子になるか。

(回答) 消化器癌では一定の見解が得られていない。教室のデータでは微小転移の有無で予後に差を認めている。現段階で微小転移を無視することはできず、治療の必要性があると考えます。

質問 3) PCR 法で診断の所要時間はどのぐらいか。

(回答) 本研究での PCR 診断は、LightCycler を用いた 2 ステップ法により行ったので 3 日間が必要であった。

質問 4) 将来的に術中に RT-PCR を用いたリンパ節転移診断は可能か。

(回答) 現在教室で検討している 1 ステップ法の SmartCycler II を用いた RT-PCR は約 40 分で結果が得られ、術中診断が可能である。

質問 5) Radio-isotope (RI) 投与後 2 時間でリンフォシンチグラフィーを行っているが、その意義は何か。

(回答) RI による SN 同定の利点は、主病変から離れた部位に存在するセンチネルリンパ節 (SN) をリンフォシンチグラフィーにより術前に把握できる点にある。とくに食道癌では頸・胸・腹部と広範囲に SN が存在する可能性があり、有用性は高いと考える。

質問 6) 正常リンパ節はどのような症例から採取したものか。

(回答) 胆嚢結石症や炎症性腸疾患などの診断で手術を行った非担癌患者から得られたリンパ節を用いた。

質問 7) SN navigation surgery の具体的方法はどのようなものか。

(回答) 手術前日にテクネシウムスズコロイドを内視鏡下に腫瘍周囲へ注入し、注入後 2 時間でリンフォシンチグラフィーを撮像して、主病変から離れた SN を確認する。手術時は RI を検出するガンマプローブにより SN の検索を行う。頸部は体表から SN の同定が可能であり、腹部や胸部は腹腔鏡、胸腔鏡下に SN を同定後に郭清する。摘出した SN の転移診断に基づき、郭清の省略や重点的郭清範囲の決定が可能となる。

質問 8) 術中にどれぐらいの時間でリンパ節微小転移の診断ができるか。

(回答) HE 染色による術中迅速病理診断は約 20 分程度である。本研究で用いた LightCycler による PCR 診断は、術中診断に用いることはできないが、SmartCycler II を用いることで RT-PCR 診断は約 40 分程度で可能である。

質問 9) 子宮体癌、子宮頸癌は SN navigation surgery の適応となりうるか。

(回答) 子宮頸癌に関しては、数施設で検討を行っているとの報告がある。

質問 10) どのような臓器で SN navigation surgery が行われているか。

(回答) 乳癌、皮膚癌はすでに臨床応用されており、胃癌、大腸癌、肺癌、子宮癌、頭頸部癌などで検討されている。

質問 1 1) SN 転移の有無が予後に結びつくか。

(回答) リンパ節転移は食道癌で最も重要な予後因子である。SN に転移があれば他のリンパ節転移の可能性があり、SN に転移がなければ、他には転移がないと判断されるので、SN の転移の有無は予後に影響すると考える。

質問 1 2) SN から 2 次リンパ節へ転移をきたす遺伝子的解析は何かされているか。

(回答) 本研究では遺伝的解析は行っていない。組織学的検討では、SN の辺縁洞に留まる転移巣は 2 次リンパ節への転移が少なく、辺縁洞を越えて髄洞に転移巣を形成すると 2 次リンパ節へ転移頻度が高いことを確認している。

質問 1 3) HE 染色で陰性、免疫染色で陽性となった症例は見落としと考えられるか。

(回答) 免疫染色のみで陽性と判断される転移巣は非常に小さく、診断した切片も違うことから、一概に見落としではないと考える。未分化で散在性に浸潤するタイプでは HE 染色のみでは判断が難しいことが多い。

質問 1 4) RT-PCR は HE 染色陰性、免疫染色陰性で行われているが、HE 染色陽性、免疫染色陽性でも行ったか。

(回答) 郭清された全てのリンパ節で RT-PCR 診断を行った。半割での診断なので、HE 染色、免疫染色陽性の全例で、RT-PCR 診断陽性ではなかったが、転移巣の大きいリンパ節では全てが陽性であった。

質問 1 5) 深達度が深くなると SN 転移が増加するか。

(回答) 従来の組織学的検討でも、深達度が深くなるとリンパ節転移の頻度は高くなる。本研究の結果でも、深達度が深くなると SN への転移が増加するという結果であった。

質問 1 6) HE 染色で陽性であった SN は PCR でも陽性であったか。

(回答) 全ての SN で RT-PCR で陽性であった。

質問 1 7) 免疫染色で陽性、PCR で陰性の症例があったが何故か。

(回答) 本研究では RT-PCR 診断には SN を半割したものを評価している。免疫染色のみで陽性となる微小リンパ節転移は、リンパ節内でも偏在している可能性が高いため、診断結果の相違に影響していると考えられる。

質問 1 8) Table 3 の微小転移と臨床病理学的因子の中で、RI の count 数との関係はどうか？

(回答) 本研究では、詳細な報告を行っていない。以前の検討で、転移リンパ節では RI 集積の高い SN ほど転移が多い結果であった。RI count はリンパ流量を反映しており、腫瘍からのリンパ流を多く受ける SN は転移頻度が高いと考えられる。

質問 1 9) ガンマプローブの信頼性はどうか。

(回答) ガンマプローブは、一定の検出感度と検出限界をもつ器機で少量の RI は検出できるものではないが、先に述べたようにリンパ流を多く受ける SN の同定には信頼性がある。

質問 2 0) RT-PCR 法を臨床応用した場合、微小転移は多い結果になるか。

(回答) 本研究の結果から、RT-PCR 診断のみで検出された微小転移は 46 例中 4 例 (8.7%) であり、低頻度である。裏を返すと 90%以上の症例では低侵襲な縮小治療が安全に行えると考える。

質問 2 1) 筋層以深 (cT2 以深) の癌に対しても臨床応用が可能か？

(回答) cT2 以深の症例では偽陰性の頻度が高くなり、臨床応用は難しい。

質問 2 2) 対象に組織型で adenosquamous cell carcinoma と adenocarcinoma が含まれているが、PCR ではどうであったか。対象から外した方が良かったのではないか。

(回答) これらの症例では RT-PCR は転移陰性であった。本研究では CEA を上皮性マーカーとして検出するために使用し、更に SCC も加えてダブルマーカーで検討を行ったので、腺癌を含む組織型でも診断は可能と考える。

質問 2 3) 粘膜下層に注入する場合、その部位は腫瘍からどの程度の距離を置いて注入するのか。

(回答) 腫瘍からは距離を置かず、腫瘍近傍の粘膜下層に 4 か所注入した。

質問 2 4) ESD を行い SN に転移陽性の場合、食道切除が必要か。

(回答) 現時点の教室の方針は、標準的リンパ節郭清を伴う食道切除としている。しかし、高齢者や合併症の多い手術リスクの高い症例では、化学放射線療法などの治療選択肢もある。

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。