

# 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 351 号		学位申請者	保 清和
審査委員	主査	古川 龍彦	学位	博士（医学）
	副査	谷本 昭英	副査	吉浦 敬
	副査	黒野 祐一	副査	上野 真一

主査および副査の 5 名は、平成 27 年 10 月 22 日、学位申請者保 清和君に面接し、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) 食道癌患者で放射線治療を 40Gy 以上照射している患者もいるのか。

(回答) 切除不能例や根治手術後の再発例に対しては、化学放射線治療（以下 CRT）の照射は 40Gy 以上行った患者が存在する。

質問 2) CRT 後の評価はいつ行っているのか。

(回答) CRT 後約 4 週間目に治療効果の評価を行っている。CRT 後の効果は放射線照射後 4 週間程度続くといわれている。評価後に切除可能例に対しては手術を施行している。

質問 3) CRT 症例で局所制御の評価はできているのか。

(回答) 原発巣における画像評価（CT、エコー、PET など）、切除例では組織学的評価を行っている。また、リンパ節転移巣に関しても同様な評価を行っている。

質問 4) Aurora-A と局所制御との関係はどうであったか。

(回答) Aurora-A 高発現例では、CRT における腫瘍縮小あるいは腫瘍消失などの効果を認めた。しかし、今回は原発巣以外の転移リンパ節での Aurora-A 発現の評価は検討していない。

質問 5) 免疫染色法に関して、Aurora-A の方法は ABC 法で行ったのか。

(回答) 過去の論文と同様に、ABC 法にて行った。

質問 6) CRT 後の組織学的効果の文献は。また、Grade2 と Grade3 の違いは何か。どういった細胞を「viable cell」と判定したのか。

(回答) CRT の組織学的効果判定は、食道癌取扱い規約に則り行った。また、Grade2 と Grade3 の効果判定においては、本院病理医の病理報告書に基づいて判定した。しかし、効果判定基準に関しては、日本食道学会の食道癌取扱い規約委員会でも議論になっている。

質問 7) fibrosis は腫瘍細胞死と間質の変化との区別ができるか。

(回答) CRT による細胞死の形態学的違いの判定には一定の見解がなく、病理学者の間でも論点となっている部分であると思われる。

質問 8) 生検材料と手術材料の比較はしたのか。その違いはあったのか。

(回答) 手術症例の Grade1 の症例を用いて、生検材料との Aurora-A の発現の違いを比較検討した。生検標本では Aurora-A は核内に発現していることが多かったが、切除標本では、核内より細胞質内に発現していることが多かった。

質問 9) 手術材料の Aurora-A が陽性例で、びまん性とかモザイクのような染色パターンに差異はなかったか。

(回答) 手術材料の Aurora-A 陽性細胞に、びまん性とかモザイクなどの特異的染色パターンは認めなかった。

質問 10) Aurora-A 陽性の判定を 10% で区切った理由は。

(回答) Aurora-A に関する過去の論文を参考にした。Aurora-A の染色濃度や、Aurora-A の局在などから点数化し判定したものや、判定基準を 30~50% などで設定するなど様々な判定方法が散見された。今回研究と同じ Aurora-A の抗体を使用した論文で、10% で判定を区切ったものを参考にして、この方法を採用した。今回の判定方法により、食道扁平上皮癌における Aurora-A 陽性率は過去の報告例と同程度であった。

質問 11) Aurora-A 陽性群で染色率に幅があるのか。

(回答) 最大で約 50% の陽性例があったが、ほとんどの症例は 10~20% であった。

質問 12) 悪性度の評価であるが、Aurora-A の発現と組織型（分化度）、進行度との相関はあったのか。

(回答) 今回の検討では、Aurora-A 発現と分化度や進行度との相関は認めなかった。過去の報告例では、大腸癌（腺癌）で、Aurora-A 高発現と高・中分化型腺癌と関連があり、低分化型腺癌には関連を認めない報告や、卵巣癌で Aurora-A の発現と Staging の間に関連があったとの報告がみられている。

質問 1 3) 40Gy の術前照射の意味は。

(回答) 通常食道扁平上皮癌では術前照射としては 40Gy が用いられており。手術不能と判断された場合には根治照射まで CRT を追加している。

質問 1 4) 手術不能例は悪性度が高かったのか。

(回答) 手術不能の理由の多くは、T4（他臓器浸潤）症例であった。このため、手術不能症例は進行癌で予後不良の結果となった。

質問 1 5) 食道扁平上皮癌以外の腺癌などでは、Aurora-A 発現と CRT との報告があるか。また、腺癌と化学療法との関係はあるか。

(回答) 卵巣癌の Aurora-A 高発現例は、CBDCA+PTX 治療では予後良好で、PTX を使用しなかった化学療法では予後不良であったという報告がみられた。Aurora-A 発現と CRT との関わりを報告する論文はなかった。

質問 1 6) 生存曲線の図で横軸が「month after surgery」とあるのは間違いなのでは。

(回答) 図 2 A、B の生存曲線の横軸はご指摘のように「month after CRT」である。

質問 1 7) Aurora-A から apoptosis、mitotic catastrophe という経路をとらえたのは何故か。

(回答) CRT 後の食道扁平上皮癌の細胞死の多くは、おそらく apoptosis が起こっていると思われるが、Aurora-A が高発現し G2/M 期チェックポイント機能を失った癌細胞は放射線感受性が上がり、その結果 DNA damage を多く受ける。DNA damage を受けた癌細胞は結果として、Mitotic Damage を増やすことになり、M 期細胞死である mitotic catastrophe を来たすと推測される。Apoptosis と mitotic catastrophe の割合は、手術検体での caspase-3 発現などの追加実験で、今後検討したい。

質問 1 8) mitotic catastrophe が起った際の悪性度は。

(回答) mitotic catastrophe が起これば apoptosis 以外の細胞死も増加し、腫瘍は縮小する結果となる。しかし、不完全な DNA 修復で多数の染色体を有するようになっても mitotic catastrophe や apoptosis 等の細胞死を起こさず生き続ける腫瘍細胞は悪性度が高いと考えられる。

質問 1 9) 手術材料や再発後の Aurora-A の発現は評価したのか。

(回答) 手術材料の Grade1 症例では Aurora-A の発現を評価したが、手術前の生検検体と比較して Aurora-A の発現頻度など変化はなかった。再発症例では標本が採れないため Aurora-A の発現は評価していない。

質問 2 0) CRT 後で Aurora-A の発現量は変化していたのか。

(回答) CRT 治療前後で Aurora-A の発現量の変化はなかった。治療前の生検検体では核内に染まる Aurora-A が治療後の手術検体では細胞質内で染まる Aurora-A が多い傾向にあった。

質問 2 1) 短期予後で Aurora-A 陽性群が良好であるが、長期予後では変わらないのは何か理由があるか。

(回答) Grade1 は全て再発を来しているが、Grade3 症例でも再発をしている。Aurora-A 陽性群は CRT により腫瘍サイズが小さくなるが、CRT 後に残っている腫瘍細胞の悪性度が高く、再発してくることが予想された。再発症例の Aurora-A の発現や、他の biomarker の関連などを追加検討することにより、長期予後に関する説明ができる可能性がある。

質問 2 2) p-53 の発現と Aurora-A との発現との関連はあるのか。

(回答) 今回の研究では、p53 と Aurora-A の発現との関連を調べていないが、p-53 が変異している癌細胞において Aurora-A の高発現を認めた報告や、Aurora-A が p-53 蛋白を直接抑制しているという研究報告がある。

質問 2 3) Aurora-A と Ki-67 との関連は調べたのか。

(回答) 正常細胞の中での Aurora-A は G2-M 期に蛋白の発現と活性を有するとされているため、G0 期以外の細胞周期で発現する Ki-67 との関連があることが予想される。今回は生検検体中の Aurora-A と Ki-67 との関連性は調べていない。今後の検討課題としたい。

質問 2 4) Aurora-A の核内での発現と細胞質内での発現の違いを評価したのか。

(回答) Aurora-A の核内と細胞質内での発現の違いについて CRT の治療効果や予後と関連があるかどうか調べたが、違いを認めなかった。

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。