

京都大学	博士（人間健康科学）	氏 名	古 畑 彩 子
論文題目	Immunohistochemical Antibody Panel for the Differential Diagnosis of Pancreatic Ductal Carcinoma from Gastrointestinal Contamination and Benign Pancreatic Duct Epithelium in Endoscopic Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration (EUS-FNA 検体における膵管癌と胃腺窩上皮・良性膵上皮との鑑別に有用な免疫染色抗体パネル)		
(論文内容の要旨)			
超音波内視鏡下穿刺吸引細胞診（EUS-FNA）は膵腫瘍の診断において、安全で高い診断能を有する方法であり、近年広く普及するようになった。膵管癌の細胞診断における既報の感度は、膵液細胞診（21%）や膵管擦過細胞診断（48%）に比べ、92%と非常に高い。一方で、EUS-FNA では、胃や十二指腸等の消化管を介して膵腫瘍を穿刺するため、標本上には目的の腫瘍細胞と良性消化管上皮、膵上皮等が混在する。細胞が少ない場合や細胞異型の乏しい高分化型腺癌では、これらの良性上皮との鑑別に苦慮する場合がある。このような場合に、EUS-FNA 検体のセルブロック標本を用いた免疫染色は有用であるが、これまでに、膵管癌と良性消化管上皮（胃、十二指腸）及び良性膵上皮とを鑑別する免疫染色抗体についての報告はない。本研究では、これらの鑑別に有用な免疫染色抗体パネルの検討を行った。 まず、手術材料より、膵管癌（PDAC）53 例、良性上皮（BE）33 例（膵管上皮：10 例、胃粘膜：11 例、十二指腸粘膜：12 例）を用いて Tissue microarray（TMA）標本作製し、免疫染色（抗体：claudin 4、EZH2、Ki-67、maspin、p53、S100P）を行った。陽性率は 0～4+とスコア化し、ROC 解析により算出したカットオフ値は、claudin 4、EZH2、Ki-67、p53、S100P は 1+、maspin は 2+であり、カットオフ値以上を陽性とした。PDAC、BE での陽性率を抗原別に示すと、EZH2 (96% vs 70%), S100P (85% vs 33%), Ki-67 (53% vs 67%), maspin (40% vs 3%), p53 (53% vs 0%), claudin 4 (96% vs 67%)であった。 上記の結果をもとに、CART (Classification and Regression Trees) 法を用いて、PDAC と良性上皮（Non-PDAC）を鑑別する免疫染色抗体パネルを作成した。作成されたパネルでは：① p53 が陽性であれば PDAC、② p53 陰性の場合、S100P、claudin 4 共に陽性であれば PDAC であった。 次に、このパネルが EUS-FNA 検体のセルブロック標本で有用であることを確認した。EUS-FNA の組織診断および臨床経過による最終診断の内訳は：膵管癌（PDAC）53 例、良性上皮（BE）22 例（膵管上皮：14 例、胃粘膜：5 例、十二指腸粘膜：3 例）であった。その結果、PDAC 53 例中 51 例は PDAC、BE 22 例中 22 例は全て良性であった。PDAC とならなかった 2/53 例は、細胞診にて PDAC と診断可能であった。 最後に、膵管癌診断における感度・特異度は、細胞診単独で 90.6%・100.0%、セルブロック単独で 73.6%・100.0%であったが、パネルを併用することで、共に 100.0%となり、相補的な役割を果たす結果となった。 本研究により作成された p53、S100P、Claudin 4 を用いた免疫染色抗体パネルは、EUS-FNA 検体において、膵管癌と良性上皮（膵臓、胃、十二指腸）の鑑別に有用であることが示唆された。			

（論文審査の結果の要旨）
膵癌は早期発見が難しく、Stage I で発見され治療を行っても 5 年生存率は 36%と予後不良である。近年、術前診断において感度の低い膵液よりも診断能に優れる EUS-FNA（超音波内視鏡下穿刺吸引細胞診）が広く普及しつつある。しかし、EUS-FNA の問題点は消化管を介して膵腫瘍を穿刺するため、良性上皮（胃粘膜、十二指腸粘膜、膵管）が混在する点と少数の腫瘍細胞や異型の弱い高分化腺癌では判定が困難な場合がある点である。 そこで本研究は、膵癌の 90%以上を占める膵管癌（PDAC）と良性上皮を鑑別する免疫染色抗体の効果的な組み合わせの確立を目的とした。 まず手術材料より、PDAC と良性上皮の免疫染色（抗体：claudin 4、EZH2、Ki-67、maspin、p53、S100P）を行い、判定のカットオフ値と有用な抗体の組み合わせを示すため、解析ソフトで決定木を作成した。結果は① p53 が 5%以上陽性であれば PDAC、② p53 陰性の場合、S100P が 5%以上陽性、claudin 4 は細胞膜に一部陽性であれば PDAC であることが示された。次に、上皮成分の断片化した EUS-FNA 検体にて検討し、PDAC の診断精度が向上した。 「以上の研究は EUS-FNA 検体における膵管癌と混入する可能性のある全ての良性上皮との鑑別に有用な免疫染色法の作成に貢献し、膵管癌の確定診断や治療方針の決定に寄与する。 したがって、本論文は博士（人間健康科学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成29年1月27日実施の論文内容とそれに 関連した試問を受け、合格と認められたものである。