

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	金 子 雄 太
主 論 文 題 名				
Volumetric imaging of the tumor microvasculature reflects outcomes and genomic states of clear cell renal cell carcinoma (淡明細胞型腎細胞がんにおける微小血管の3次元構造は予後と遺伝子変異を反映する)				
(内 容 の 要 旨)				
腫瘍組織は不均一性を持つ複雑な構造物であり、同一腫瘍であっても微小環境を織りなす脈管・層構造は異質性に富んでいる。これまでのがん研究の構造解析は、腫瘍組織を2次的に解釈する手法が中心になっており、立体的な脈管・層構造が生み出す、本来は不均一な腫瘍空間を可視化できずにいた。本研究では最新鋭ライトシート顕微鏡による新規3次元イメージングを用いることで、腫瘍内の脈管構造を3次的に捉え、進行性腎がんの□病態把握、□遺伝子変異、□腫瘍免疫環境の予測が可能かどうかを検討したものである。 46名の淡明細胞型腎細胞癌の患者を対象とした。対象のホルマリン固定パラフィンサンプルの腫瘍中心部から、3mm大のコアをくり抜き処理に用いた。そして3Dイメージングを構築するにあたりホルマリン固定パラフィンサンプルをライトシート顕微鏡の3次元イメージングへ利用するプラットフォームdiagnosing immunolabeled paraffin-embedded cleared organs (DIPCO) 法と呼ばれる手法を用いた。脱パラフィン、脱脂、脱水を行い、1次抗体として血管内皮細胞マーカーCD34、リンパ内皮細胞マーカーLYVE1で蛍光染色を行った。最終的に高屈折率溶液に置換することで、検体を透明化した。この透明化された検体を3次元ライトシート顕微鏡で観察し、撮像した。この画像をZスタック10マイクロメートルで重ね合わせ、最終的にAmiraという画像解析ソフトにて3次元構築を行った。構造解析にあたり、血管、リンパ管それぞれの密度、脈管長、半径、密度の尖度、歪度、分散という分布指標を測定し、患者の予後や遺伝子変異との関係性について比較検討した。 まず、腫瘍のgrade、腫瘍径、静脈浸潤といった病理組織学的要素とそれぞれの測定値に関してreceiver operating characteristic (ROC) 曲線解析を行うことにより関係性を検討した。その中で血管およびリンパ管の分布と、gradeの高さ、腫瘍サイズの大きさ、静脈浸潤の有無などの病理学的因子との関連が明らかになった。続いて、それぞれの3次元パラメータに関して、患者の転帰に関して層別可能かどうか検討したところ、CD34とLYVE-1発現の両方で密度が高いほど、そして密度の分散が低いほど予後が良好であることが示された。 遺伝子変異に関してはPI3K-mTOR経路、TP53/Cell cycle経路、SWItch/Sucrose Non-Fermentable (SWI/SNF) complexの変異の有無について検討した。その中で有意な関係性が認められたのはPI3K-mTOR経路と腫瘍の血管半径であった。これはPI3K-mTOR経路に関連する遺伝子変異が血管形成に関連していることを示唆していると考えられた。 以上の結果から3次元イメージングによる構造解析は予後を予測し、遺伝子変異の代替バイオマーカーとして役立つ可能性があることが示唆された。今回用いた組織透明化技術と免疫組織化学は腫瘍の3次元解析を可能にし、腫瘍腔内の微小血管構造の理解を深めることが可能になったと考えられる。				