

別紙 1 - 1

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 筒山 将之

論 文 題 目

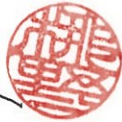
Detection of circulating tumor cells in drainage venous blood from colorectal cancer patients using a new filtration and cytology-based automated platform

(新規 CTC 自動分離プラットフォームを用いた  
大腸がん患者における排出路静脈からの循環腫瘍細胞の検出)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

柳野 正人 

名古屋大学教授

委員

藤 成 光弘 

名古屋大学教授

委員

吉 川 史 隆 

名古屋大学特命教授

指導教員

小 池 聖 彦 

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、3D 金属フィルターおよび定圧制御システムを用いた CTC 自動検出プラットフォームを新たに開発し、細胞診に基づいた CTC の診断基準を確立した。CTC の診断基準とは、サイトケラチン陽性、ヘマトキシリン核染色およびパパニコロウ染色にて核異型性を有する細胞とした。また、このデバイスを用いてパイロット研究を行ったところ、大腸癌患者での末梢静脈血 CTC 数は健診で異常を指摘されなかった健常人と比較して有意に多かった。また排出路静脈血 CTC 数は末梢静脈血 CTC 数より有意に多く、さらに進行度に準じて多くなる傾向にあった。以上より、本デバイスを用いた排出路静脈から回収した CTC は Liquid biopsy として有用な診断ツールとなりうる可能性が示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 従来の CTC ろ過装置は流量を一定にする定流量回路回路であった。この場合、血液中の白血球などがフィルター孔に詰まり開口率が低くなると、回路の圧が上昇し孔を通過する CTC の流速も上昇する。このため細胞にかかる「ずり応力」が高くなり、細胞変形をきたす原因となっていた。本プラットフォームでは、膜ポンプや負圧レギュレーター、圧センサー等を組み合わせ、開口率にかかわらず CTC が孔を通過する流速が一定となる定圧回路を採用した。これにより細胞にかかる「ずり応力」を一定にし、細胞形態を良好に保存することに成功した。
2. 従来の蛍光法による CTC 検出は細胞の形態学的情報が乏しく、CTC 判定の客観性に課題があった。樹脂製フィルターを用いて CTC を細胞学的に検出する方法も存在するが、有機溶媒が使えず、細胞診に用いるパパニコロウ染色が困難であった。本法は、金属フィルターで捕捉した CTC を転写し、スライドガラス標本作製する点に特徴がある。これにより、パパニコロウ染色や免疫染色、蛍光染色など種々の染色オプションが可能となり、通常の病理学的手法による CTC 検出を可能にした。
3. 従来の PB からの CTC 検出は 1~数十個/10ml と気象であることに起因して、検出の困難さ、腫瘍マーカーとしての有用性の限界、また遺伝子解析の困難さなどが大きな弱点であった。本研究では、上記課題を克服する方法として DVB 由来 CTC の検討を行った。その結果、DVB 由来 CTC は PB と比較して陽性率が 96%と高率で、CTC 数も病期に依存し 5 倍以上多いことが明らかとなり、DVB が CTC の新たなソースとなり得る可能性が示唆された。DVB は 1 回しか採取できず、また PB のような純簡潔でないため手術操作による人為的な影響も否定できないが、患者からリスクなく多数の CTC を回収できることは、遺伝子解析のソールなど PB にはない大きな利点があり、今後さらなる臨床研究によりその病理学的意義を明らかにする価値がある。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	筒山 将之
試験担当者	主査	柳野正人	副査 <sub>1</sub>	藤岡 克三
	副査 <sub>2</sub>	吉川史隆	指導教員	小池 聖孝
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. CTC自動分離プラットフォームにおいて定圧制御システムを採用した理由</li> <li>2. CTC自動分離プラットフォームが従来のCTC検出法と異なり蛍光染色法でなく、免疫細胞染色法を採用した理由とその利点</li> <li>3. 抹消静脈血CTCと比較して排出路静脈血CTCのLiquid biopsyのソースとしての長所と短所</li> </ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、消化器外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				