

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11158

研究課題名(和文) 卵巣癌の横膈腹膜転移の病態とその予測因子、臨床的意義の解明

研究課題名(英文) Mechanisms and predictive factors of ovarian cancer metastasis to the diaphragm

研究代表者

大城 久(Oshiro, Hisashi)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60381513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣癌の術中に横膈腹膜擦過・液状化細胞診を行い、卵巣癌の横膈腹膜転移の予測因子を調べた(n=76)。卵巣癌の横膈腹膜転移陽性例で頻度が有意に高かった所見は癌性腹水(オッズ比42.9)、リンパ節転移(オッズ比27.0)、大網転移(オッズ比13.7)、大網以外の腹膜転移(オッズ比11.2)、原発巣での癌のリンパ管侵襲(オッズ比6.4)、卵巣被膜表面への癌露出(オッズ比5.6)、術前化学療法施行例(オッズ比4.7)、高異型度漿液性癌(オッズ比3.5)、リンパ節非郭清例(オッズ比0.3)だった。年齢や卵巣癌の被膜破綻、原発巣での癌の血管侵襲に関して横膈腹膜転移陽性例と陰性例との間で有意差はなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌の横膈腹膜転移が癌性腹水発症の独立した予測因子となる可能性を研究代表者は既に報告している。本研究の結果は、癌の横膈腹膜転移の病態形成の上で癌のリンパ節転移が重要な予測因子となることを示唆しており、『骨盤内や傍大動脈のリンパ節に癌が転移し、腹膜や後腹膜にリンパのうっ滞が起こり、それに伴って腹水の産生速度が吸収速度を上回って腹水が貯留し、癌細胞が逆行性(あるいは経路再選択性)リンパ行性に横膈腹膜リンパ管に到達し、リンパ管小孔を介して癌細胞が腹腔へ出ていくことで癌性腹水が発生する』という研究代表者の新たな仮説をある程度支持するものと思われ、この点において本研究成果には学術的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We studied predictive factors of ovarian cancer metastasis to the diaphragmatic peritoneum using a method of intraoperative diaphragmatic brushing and liquid-based cytology (n=76). The rates of cancerous ascites (Odds Ratio (OR) 42.9), metastasis to the lymph node (OR 27.0), metastasis to the omentum (OR 13.7), metastasis to the peritoneum except for the omentum (OR 11.2), lymphatic vessel invasion of cancer in the primary lesion (OR 6.4), cancer exposure on the ovarian surface (OR 5.6), neoadjuvant chemotherapy (OR 4.7), high-grade serous carcinoma histology (OR 3.5), and no lymph node dissection (OR 0.3) were significantly increased in the group cytologically positive for diaphragmatic metastasis compared with the group cytologically negative for diaphragmatic metastasis (Fisher's exact test). Rates of patients' years of age, rapture of ovarian capsule, and blood vessel invasion of cancer in the primary lesion did not significantly differ between the two groups.

研究分野：医歯薬学

キーワード：卵巣癌 癌性腹水 悪性腹水 横膈腹膜 リンパ管小孔 lymphatic stomata リンパ行性転移 腹膜擦過・液状処理細胞診

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

卵巣癌の大半は進行期で発見され、未だに予後不良な病気である。進行期卵巣癌の重要な予後因子は術後の腫瘍遺残量と考えられているが、その多くは横隔膜転移を有し、最適な腫瘍減量手術を妨げる大きな原因となっている。しかしながら、横隔膜転移の病態やその予測因子についてはほとんど解明されていない。もし、卵巣癌の横隔膜転移の予測因子が明らかにされれば、患者を層別化した上で、術中に横隔膜の精査に注力すべきか否かをあらかじめ決定することができ、手術の効率化や腫瘍減量率の向上が期待できる。

### 2. 研究の目的

ヒト卵巣癌の手術症例を用いて、卵巣癌の横隔膜転移の病態や、その予測因子を明らかにすることを目的とした。また、そのための解剖学的特徴を明らかにし、さらに、癌の横隔膜転移を検出するための最適な検査法を確立することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 横隔膜の解剖学的特徴を調べるためにヒト非担癌剖検症例の横隔膜を使って電子顕微鏡で観察した。死後4時間以内に病理解剖が行われ、癌の横隔膜転移や明らかな腹膜炎のない3例が対象に選ばれた。症例は全て男性で、年齢幅は43-70歳であった。剖検時、横隔膜を傷つけないように右側と左側から採取し、グルタルアルデヒドで固定した後、走査型電子顕微鏡を用いて腹膜表面を観察した。観察範囲はランダムに選ばれた1平方ミリメートル領域とし、観察倍率2000倍で連続的にデジタル顕微鏡写真を撮影し、分布密度や小孔最大径を計測した。

(2) 最適な横隔膜擦過細胞診断法を確立するため、ヒト非担癌剖検症例および担癌剖検症例の横隔膜を擦過して従来の綿棒法とブラシによる擦過法とを比較検討した。対象は非担癌で明らかな腹膜炎のない剖検例8例と担癌の剖検例1例とした。非担癌の剖検例8例を、年齢や性、死後時間、腹水量に偏りなくランダムに2群に分け、従来法である綿棒(成毛式ソラココットン 大4 K70-7105)を採取器具に使用した群(A群, n=4)と、新規法であるブラシ(Orcelllex Brush)を採取器具に使用した群(B群, n=4)とで比較した。担癌の剖検例はブラシで採取した。剖検時、腹水を吸引した後、横隔膜を擦過し、検体を液状化細胞診検体試薬ボトル(TACAS Gyn Vial)にて回収し、手法プロトコール(MBL)に従って細胞診標本を作製した。各ボトルからパパニコウ染色、PAS染色、アルシアンブルー染色、ギムザ染色標本を1枚ずつ作製した後、ボトルの残渣検体からアルギン酸ナトリウム法によるセルブロック標本ならびにH&E染色標本を作製した。各染色の観察にはバーチャルスライドシステムを使用した。有核細胞数の計測にはパパニコウ染色標本を用いてデジタル顕微鏡画像解析ソフトウェア(Nuclear Quant; 3D HISTECH)を併用して行った。

(3) 卵巣癌の手術中に腹水を採取して細胞診検査を行い、また、ブラシを用いて横隔膜擦過・液状化細胞診検査を行い、これらの検体中の癌細胞の有無を調べた。また、摘出された臓器の病理組織標本を作製し、卵巣癌の組織型や卵巣被膜破綻、卵巣被膜浸潤、原発巣における脈管侵襲、大網転移、大網以外の腹膜転移、リンパ節転移の有無等を調べた。得られた検査結果を用いて、卵巣癌の横隔膜転移の予測因子を調べた(n=76)。

### 4. 研究成果

(1) ヒト非担癌剖検症例の横隔膜には、右側、左側のいずれにおいても腹膜表面にリンパ管内皮細胞で縁取られた小孔が観察された。横隔膜右側では、リンパ管小孔の分布密度は162-352個/平方ミリメートルで、小孔径の中央値は3.97-4.09マイクロメートル(最小値0.77、最大値26.33)であった。横隔膜左側では、リンパ管小孔の分布密度は86-383個/平方ミリメートルで、小孔径の中央値は4.05-4.46マイクロメートル(最小値0.73、最大値25.52)であった。なお、分布密度や小孔径に左右差は見出されなかった(対応サンプルによるWilcoxonの符号付き順位検定:p=0.593; p=0.655)。右側、左側いずれにおいても癌細胞などの有核細胞の両方向性(中皮下リンパ管 腹腔、または腹腔 中皮下リンパ管)の移動を可能にする小孔の大きさと構造が確認できた。

(2) 最適な横隔膜擦過細胞診断法に関する検討においては、いずれの症例でも採取後に横隔膜損傷や不正出血は起こらず、4種類の細胞診染色標本は問題なく作製でき、観察可能な標本の質が担保されていた。A群(中央値10万個)よりもB群(中央値48万個)の方が細胞採取量が有意に多かった(P<0.05)。また、セルブロックH&E染色標本中にはA群では有核細胞が含まれていない症例があったが、B群では全ての症例で有核細胞が認められた。担癌症例では全ての標本で癌細胞が観察され、組織標本で癌の横隔膜転移が確認された。本検討結果として、ブラシを用いた横隔膜擦過・液状化細胞診断法は綿棒を用いた従来法と比べて操作が簡便であり細胞採取量が多く、また、セルブロック標本の作製にも優れ、癌細胞の検出の精度を向上させることを確認できた。

(3) 卵巣癌の横隔膜転移陽性例で頻度が有意に高かった所見は、悪性腹水(p<0.000; オッズ比42.9)、癌のリンパ節転移(p=0.008; オッズ比27.0)、癌の大網転移(p<0.000; オッズ比13.7)、癌の大網以外の腹膜転移(p<0.000; オッズ比11.2)、原発巣での癌のリンパ管侵襲(p=0.016; オッズ比6.4)、癌の卵巣被膜表面露出(p=0.005; オッズ比5.6)、術前化学療法施

行例 ( $p=0.012$ ; オッズ比 4.7) 高異型度漿液性癌 ( $p=0.042$ ; オッズ比 3.5) リンパ節非郭清例 ( $p=0.042$ ; オッズ比 0.3) であった (Fisher の正確検定)。年齢や卵巣癌の被膜破綻、原発巣での癌の血管侵襲に関しては横隔腹膜転移陽性例と陰性例との間で頻度に有意差は示されなかった。

(4) 癌の横隔腹膜転移が癌性腹水発症の独立した予測因子となる可能性を研究代表者は既に報告している。本研究の結果は、癌の横隔腹膜転移の病態形成の上で癌のリンパ節転移が重要な予測因子となることを示唆しており、『骨盤内や傍大動脈のリンパ節に癌が転移し、腹膜や後腹膜にリンパのうっ滞が起こり、それに伴って腹水の産生速度が吸収速度を上回って腹水が貯留し、癌細胞が逆行性(あるいは経路再選択性)リンパ行性に横隔腹膜リンパ管に到達し、リンパ管小孔を介して癌細胞が腹腔へ出ていくことで癌性腹水が発生する』という研究代表者の新たな仮説をある程度支持するものと思われる。この点において本研究成果には学術的意義があると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Morita K, Fujiwara SI, Ikeda T, Kawaguchi SI, Toda Y, Ito S, Ochi SI, Nagayama T, Mashima K, Umino K, Minakata D, Nakano H, Yamasaki R, Kawasaki Y, Sugimoto M, Ashizawa M, Yamamoto C, Hatano K, Sato K, Oh I, Ohmine K, Muroi K, Ashizawa K, Yamamoto Y, Oshiro H, Kanda Y.	4. 巻 141
2. 論文標題 TAFRO Syndrome with an Anterior Mediastinal Mass and Lethal Autoantibody-Mediated Thrombocytopenia: An Autopsy Case Report.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Haematol.	6. 最初と最後の頁 158-163.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000492743.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Komatsubara T, Oshiro H, Sakuma Y, Sata N, Niki T, Fukushima N.	4. 巻 69
2. 論文標題 Overexpression of matriptase in tumor stroma is a poor prognostic indicator of extrahepatic bile duct cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pathol Int.	6. 最初と最後の頁 86-93.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12769.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mito K, Amano Y, Oshiro H, Matsubara D, Fukushima N, Ono S.	4. 巻 98
2. 論文標題 Liver heterotopia associated with congenital diaphragmatic hernia: Two case reports and a review of the literature.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medicine.	6. 最初と最後の頁 e14211.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000014211.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita K, Oshiro H, Mito K, Mieno MN, Tamba-Sakaguchi M, Niki T, Miki A, Koizumi M, Sakuma Y, Komatsubara T, Sata N, Fukushima N.	4. 巻 97
2. 論文標題 Prognostic significance of the degree of lymphatic vessel invasion in locally advanced, surgically resectable pancreatic head cancer: A single center experience.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medicine.	6. 最初と最後の頁 e13466.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000013466.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tamba-Sakaguchi M, Oshiro H, Minakata D, Yanagita M, Kohri T, Nikaido T, Kikuchi M, Suzuki T, Yoshimoto T, Fukushima N.	4. 巻 46
2. 論文標題 Cytological detection of recurrence of acute myeloid leukemia in a postmenopausal woman presenting with abnormal uterine bleeding.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diagn Cytopathol.	6. 最初と最後の頁 1077-1080.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dc.24085.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hisashi Oshiro, et al	4. 巻 96
2. 論文標題 Giant solitary fibrous tumor of the pleura with high-grade sarcomatous overgrowth accompanied by lipid-rich, rhabdomyosarcomatous, and pleomorphic components: A case report	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore). 2017 Dec;96(50):e8926.	6. 最初と最後の頁 e8926
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000008926	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hisashi Oshiro, et al	4. 巻 Epub ahead of print
2. 論文標題 Liver fibrosis: noninvasive assessment using supersonic shear imaging and FIB4 index in patients with non-alcoholic fatty liver disease	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Med Ultrason	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10396-017-0840-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito A, Yamazaki Y, Sasano H, Matsubara D, Fukushima N, Tamba M, Tabata K, Ashizawa K, Takei A, Koizumi M, Sakuma Y, Sata N, Oshiro H	4. 巻 67
2. 論文標題 A case of primary aldosteronism caused by unilateral multiple adrenocortical micronodules presenting as muscle cramps at rest: The importance of functional histopathology for identifying a culprit lesion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pathol Int	6. 最初と最後の頁 214-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12521	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oshiro H, Czerniak BA, Sakamaki K, Tsuta K, Bondaruk J, Keyhani A, Dinney CP, Nagai T, Kamat AM	4. 巻 95
2. 論文標題 Comparison between whole mount tissue preparations and virtual tissue microarray samples for measuring Ki-67 and apoptosis indices in human bladder cancer: A cross-sectional study	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e4500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.0000000000004500	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 大城久、他
2. 発表標題 ブラシを用いた横隔膜膜擦過・液状化細胞診断法の細胞採取量の検討 綿棒法との比較
3. 学会等名 第56回日本臨床細胞学会秋期大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大城久、他
2. 発表標題 不正子宮出血を契機に再発が確認された急性骨髄性白血病の一例
3. 学会等名 第56回日本臨床細胞学会秋期大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hisashi Oshiro, et al
2. 発表標題 Prognostic value of quantification of lymph vessel invasions (LVIs) of cancer cells in patients with pancreatic head cancer
3. 学会等名 Annual Meeting of The United States and Canadian Academy of Pathology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 和田 聖哉, 川原 勇太, 翁 由紀子, 早瀬 朋美, 田中 大輔, 柳澤 智彦, 小野 滋, 五味 玲, 相原 敏則, 古川 理恵子, 大城 久, 森本 哲
2. 発表標題 -T細胞性急性リンパ性白血病の同種移植後に悪性末梢性神経鞘腫を発症した神経線維腫症1型の一例
3. 学会等名 第59回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 伊藤 淳史, 山崎 有人, 笹野 公伸, 松原 大祐, 福嶋 敬宜, 丹波 美織, 田畑 憲一, 武井 暁一, 小泉 大, 大城 久
2. 発表標題 片側性多発副腎皮質微小結節による原発性アルドステロン症の一例
3. 学会等名 第62回日本病理学会秋期特別総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Satoshi Ito, Daisuke Matsubara, Tomoko Suzuki, Toshikatsu Kohri, Kumiko Mito,
2. 発表標題 Atypical diagnosis category of bile cytology in pancreatobiliary carcinoma and benign diseases
3. 学会等名 The 19th International Congress of Cytology
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 郡 俊勝, 伊藤 聡史, 柳田 美樹, 鈴木 智子, 天野 雄介, 大城 久, 田中 裕美子, 藤田 崇史, 福嶋 敬宜
2. 発表標題 乳腺筋上皮腫の一例
3. 学会等名 第30回関東臨床細胞学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 丹波 美織, 天野 雄介, 大城 久, 福島 敬宜, 仁木 利郎
2. 発表標題 経気腔散布像ならびに洗淨胸水中に多数の腫瘍集塊を認めた肺扁平上皮癌の一例
3. 学会等名 第72回日本病理学会関東支部学術集会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	黒田 雅彦 (Kuroda Masahiko)  (80251304)	東京医科大学・医学部・主任教授  (32645)	