

博士學位論文

内容の要旨

および

審査結果の要旨

令和6年3月

近畿大学大学院

医学研究科

学位論文審査結果の報告書

氏 名 宮川 知保

生 年 月 日 昭和・平成 55年 3月 18日

本 籍 (国 籍) 大阪府

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 医 第 1418 号

学位授与の条件
(博士の学位) 学位規程第5条該当

論 文 題 目

Histopathological subtyping of high-grade serous ovarian cancer using whole slide imaging

(バーチャルスライドWSIを用いた卵巣高異型度漿液性癌の病理形態学的細分類)

学位論文受理日 2023年 11月 8日

学位論文審査終了日 2024年 1月 17日

審 査 委 員 (主 査) 沼藤 彰彦

(副主査) 垣 見 和宏

(副主査) 林 秀敏

指 導 教 員 松村 謙臣

論文内容の要旨

【目的】

上皮性卵巣がんは婦人科悪性腫瘍のうち最も予後不良の疾患ではあるが、そのうち最も罹患率の高い組織型である高悪性度漿液性癌（HGSC）は、BRCAに代表される相同組換え修復遺伝子の欠損を有する患者が約50%を占め、卵巣がんの中でも化学療法感受性が高いことが特徴である。我々は、4つの病理形態学的細分類；Mesenchymal Transition（MT）、Immune Reactive（IR）、Papilloglandular（PG）、Solid and Proliferative（SP）を定義し、それがHGSOCにおける4つの遺伝子発現サブタイプと関連すること、そして、MTタイプは他のタイプに比して予後不良であることを報告した。本研究では、スライドグラスではなく汎用性の高いバーチャルスライドWhole Slide Imaging（WSI）において高い観察者間一致を達成するために病理組織学的細分類アルゴリズムを修正し、MTタイプの腫瘍生物学的特徴を明らかにすることで、治療の個別化に役立てることを目的とした。

【方法】

4人の検者が、学習なしにweb上の公開データであるThe Cancer Genome Atlas（TCGA）におけるHGSOC症例のWSIを用いて個別に病理形態学的細分類を判定した。その結果を4検者間で検証し、WSIで細分類を判定する新たなアルゴリズムを再定義した。このアルゴリズムを用いて、validationセットとして、近畿大学と京都大学のHGSOC症例を4検者が個別に評価し、一致率を求めた。さらに、MTタイプで高発現している遺伝子を遺伝子オントロジー解析（gene ontology term analysis）を用いて確認し、血管新生や免疫細胞の指標となる免疫組織化学染色で検証を行った。

【結果】

再定義したアルゴリズムを用いて細分類を評価したところ、観察者間の一致を示すカッパ係数は、4分類で0.5以上（**moderate agreement**）、2分類（MT vs nonMT）で0.7以上

（**substantial agreement**）であった。それらで評価した分類を遺伝子発現解析すると、血管新生と免疫反応に関連する遺伝子オントロジーが、MTタイプで高発現していた。免疫組織化学染色では、血管内皮マーカーであるCD31がnon MTタイプに比べてMTタイプで高く、CD8/CD103陽性免疫細胞の浸潤が多い組織を有する症例がMTタイプで観察された。

【考察】

アルゴリズムを再定義することで、病理形態学的細分類診断の検者間一致率は特に2分類でさらに向上した。判定した細分類において、MTタイプは血管新生や免疫反応に関する遺伝子が高発現し、腫瘍組織での血管の増殖や免疫細胞の浸潤を認めたことから、血管新生阻害薬や免疫チェックポイント阻害薬の治療効果のバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。

【結論】

WSIを用いてHGSOCの病理形態学的サブタイプを再現性よく分類するアルゴリズムを開発した。本研究の結果は、血管新生阻害薬や免疫療法を含むHGSOCの治療の個別化に有用であろう。

	公表年月日	出版物の種類および名称
博士論文の印刷公表	2023年2月10日 online 公表 (DOI: 10.3802/jgo.2023.34.e47)	博士学位論文 Journal of Gynecologic Oncology Vol.34 No.4 web: e47.
	全文	Histopathological subtyping of high-grade serous ovarian cancer using whole slide imaging

論文審査結果の要旨

1) 論文内容の要旨

【目的】

上皮性卵巣がんは婦人科悪性腫瘍のうち最も予後不良の疾患であり、そのうち最も罹患率の高い組織型である高悪性度漿液性癌 (HGSC) の多くは腹膜播種を伴う進行症例として診断され、薬物療法が主要な治療手段である。HGSCの薬剤感受性や予後は症例により様々であり、治療個別化のためのバイオマーカーの開発が求められている。我々は以前、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色病理標本のスライドグラスを用いてHGSCの4つの病理形態学的細分類; Mesenchymal Transition (MT), Immune Reactive (IR), Papilloglandular (PG), Solid and Proliferative (SP) を定義し、その中でMTタイプはmesenchymal遺伝子発現サブタイプと相関し、他のタイプに比して予後不良であることを報告した。本研究では、スライドグラスではなく、汎用性のより高いバーチャルスライド Whole Slide Imaging (WSI) を用いて病理組織学的細分類アルゴリズムを確立し、MTタイプの腫瘍生物学的特徴を明らかにすることで、治療の個別化に役立てることを目的とした。

【方法】

4人の検者が、web上の公開データであるThe Cancer Genome Atlas (TCGA) におけるHGSC症例のWSIを用いて個別に病理形態学的細分類を判定した。その結果を4検者間で検証し、WSIで病理細分類を判定するための新たなアルゴリズムを作成した。このアルゴリズムを用いて、検証データセットとして、近畿大学と京都大学のHGSC症例を4検者が個別に評価し、一致率を求めた。さらにMTタイプで高発現している遺伝子群のgene ontologyによりpathway解析を行い、免疫組織化学染色で検証を行った。

【結果】

今回作成したアルゴリズムを用いて、HGSCのTCGAおよび検証データセットのWSIを4検者が細分類したところ、観察者間の一致を示すカッパ係数は、4分類で0.5以上 (moderate agreement)、2分類 (MT vs nonMT) で0.7以上 (substantial agreement) であった。その分類に基づいて遺伝子発現解析を行うと、MTタイプでは血管新生と免疫反応に関連するgene ontologyが濃縮していた。免疫組織化学染色では、CD31陽性微小血管の密度がnon MTタイプに比べてMTタイプで高く、CD8/CD103陽性免疫細胞の浸潤が多い組織を有する症例がMTタイプで観察された。

【考察】

我々が以前報告したHGSCの病理形態学的細分類 (Am J Pathol, 2016) は、診断の再現性が十分に検証されていなかったために世界的にはあまり普及しなかった。今回の研究では公開されているTCGAのWSIを用いて病理形態学的細分類のアルゴリズムを確立したことによって、世界中の病理医が本分類を検証し再現できるようになった。今後、本研究で樹立したWSIを用いた分類アルゴリズムは、人工知能 (AI) による診断システムを開発するための基礎データとなることが期待できる。また、MTタイプでは血管新生や免疫反応に関する遺伝子が高発現し、腫瘍組織での血管の増殖や免疫細胞の浸潤を認めたことから、HGSCの病理細分類は血管新生阻害薬や免疫チェックポイント阻害薬の感受性のバイオマーカーとなる可能性が示された。

【結論】

WSIを用いてHGSCの病理形態学的細分類を再現性よく診断するアルゴリズムを開発した。本研究の結果は、HGSCの治療個別化に有用であろう。

本研究は、卵巣癌の中でも頻度が高く予後不良の組織型であるHGSCの病理組織形態に着目したものである。以前、本研究グループは、日常診療で使用するHE染色標本を元に予後や治療効果予測ができるバイオマーカーとして、病理形態学的細分類を報告した。今回の研究において、申請者らは病理組織像の共有やAIを用いた研究への応用を重視して、WSIを用いた病理形態学的細分類のアルゴリズムを作成した。さらにMTタイプでは血管新生や免疫反応が亢進していることから、本分類はそれらの経路を標的とする薬剤のバイオマーカーとなる可能性が示された。

論文の内容はそこまでであったが、申請者はその後も研究を進めており、その内容について説明した。卵巣がんの臨床試験に登録された腫瘍のHE標本を入手して解析したところ、HGSCのMTタイプではペバシズマブの追加やパクリタキセルを増量する治療レジメンへの感受性を有する可能性を見出した。また、作成したアルゴリズムを用いてAIで病理形態学的細分類の診断を行うシステムを構築し、病理医による診断との一致率が81%と高いことを示した。そして、今後、大規模臨床試験のデータを用いた検証を行うことで病理形態学的細分類の妥当性を評価していく方針であることを述べた。本研究は、卵巣がんの日常臨床に個別化医療を簡便に取り入れるためのツールを開発したものであり、今後更なる発展が見込まれる。

2) 審査結果の要旨

宮川知保氏の博士学位論文に対する最終試験は、2023年12月15日の午前11時から第7講義室で実施された。

まず、宮川氏が本研究を行うに至った背景、目的と方法、結果と考察、さらに現在進行中の研究の結果について口頭で発表し、それに対して主査である伊藤、副主査である垣見、林両教授がいくつかの疑問点を質問した。

垣見教授からは、卵巣高異型度漿液性癌の病理形態学的細分類の判定方法を具体的にどのようにして決めたのか、その診断アルゴリズムは遺伝子発現プロファイルと関連があるのか、遺伝子発現プロファイルと病理形態学的細分類の不一致症例の特徴は何なのか、遺伝子発現が病勢を反映しきれていないことが不一致の原因の一つであると主張したがその理由は何なのか、と質問された。林教授からは血管新生などの免疫染色ではなく病理形態学的細分類をペバシズマブ感受性予測のバイオマーカーとして用いる意義は何なのか、また、スライドグラスをWSIにして診断基準を再構築して一致率の向上が見られたが、さらにそれをスライドグラスで再鏡検すると結果はどうだったか、と質問がされた。伊藤からは、病理形態学的細分類のMTタイプの名前の由来について、通常の病理診断は上皮成分を中心に良悪の判定を行って診断していくにも関わらず、問質に注目してその名前をつけ、診断しようとした理由について、また卵巣の組織特異性、とくに卵巣間質細胞との関連などがあるのかどうかについて質問した。

これらの質問に対し、今まで行ってきた結果を加味してその理由を説明し、現在までに検討できていないことに関しては今後の課題として挙げて、さらに研究を進めていく今後の方針を的確に説明した。したがって、主査・副主査は合議の上、提出された学位論文を確かに宮川氏の研究成果であること、学位授与にふさわしい研究内容であることを確認し、最終試験を合格と判定した。

3) 最終試験の結果：合格

審査基準に基づく評価点

A項目 46/50点 48/50点 48/50点

B項目 5/5点 5/5点 5/5点

4) 学位授与の可否：可