

特集Ⅱ

第38回未来医学研究会大会より

未来医療のチャレンジャー

神経膠腫の術中迅速判断のための 診断支援機器開発

日本光電工業株式会社 荻野記念研究所 河田町研究室

塩山 高広

Takahiro Shioyama

はじめに

神経膠腫（以下 glioma）は、悪性度が高くなるほど正常組織に浸潤性に広がるため、術者は正常組織と腫瘍の境界を見極めながら、正常組織を傷つけずに、腫瘍を摘出することが求められる。その一方で、摘出率の向上が生存率向上および再発率低下に繋がることも明らかとなってきた¹⁾。そのため近年は術中MRIのナビゲーションや5-ALAによる蛍光診断、術中迅速病理診断等様々な手法が研究され、それらを用いた摘出率の向上を目指した手術が行われている²⁾。そのような背景のもと、高DNA量測定装置 セルタック Peak と DNA 染色試薬 FC-220V による術中迅速フローサイトメトリーシステムは、新たな術中の摘出組織の定量測定手法として開発を進めてきた。

術中フローサイトメトリー法の 確立

従来、フローサイトメトリー法によるDNA

Ploidy解析は様々な臓器において行われており、日本サイトメトリー学会からは2009年に測定ガイドラインが発表されている³⁾。gliomaにおいても、DNA ploidy解析が実施され、病理組織学的悪性度とS期とG2/M期の細胞比率に相関があるとの報告や、悪性のgliomaにおいて、30-80%でDNA aneuploidy（異数体）細胞の検出が可能であるとの報告もされている⁴⁾。しかしながら、いずれも測定手技が煩雑で時間がかかり（通常30~40分）、さらに、フローサイトメーターの測定にあたり専門の測定要員が必要となるため、術中のツールとして利用することが困難であった。そこでこのDNA Ploidy解析を術中に用いるため、DNA染色試薬とピペッティング法による組織前処理の迅速化により迅速フローサイトメトリー測定手法を確立し、DNA content（細胞核内DNA量）の新たな解析方法を提案してきた⁵⁾。具体的には摘出した組織を10分間で測定可能な組織の前処理法を開発し、フローサイトメトリーによって測定したDNA contentを、新たに考案した判定基準：Malignancy Index（以下、MI）により、定量的に解析するというものである。MIは、測

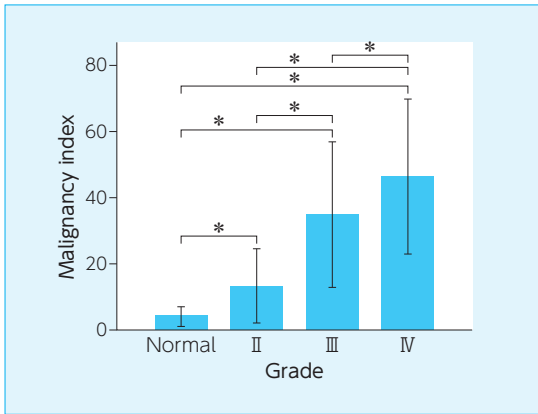


図1 Malignancy Indexと病理学的悪性度との関係 (参考文献(5)より転載)

定した全細胞数に対する正常細胞よりも多いDNA量を持つ細胞の数、つまりDNA AneuploidyやG2/M期の細胞の比率と定義した。MIは永久病理標本の悪性度と良く相関し、従来の凍結標本やスメア法とともに、新たな脳腫瘍の術中迅速評価法となりうると報告した。(図1)

術中フローサイトメトリーシステムの特徴

開発したシステムは、本体装置(図2)と試薬(図3)、細胞単離キット(図4)で構成されており、迅速フローサイトメトリー測定手法に従い、術中に誰でも迅速測定ができるように、以下の3つの特徴を有する。1つ目に、装置画面上に操作ガイド(図5)が表示されるので、誰でも簡単に測定を行うことができる。2つ目に、装置内に細胞の単離を行うユニットを搭載したことで、煩雑な前処理の必要がなく細胞単離・染色・測定を全自動で10分で行うことができる。3つ目に、測定に必要な組織のサイズが術中迅速病理診断を行う際に必要な組織サイズと同等の2mm角程度であり、執刀医は従来の手術とほとんど同じフローの中で本測定を行うことができる。

この測定により本システムでは、DNA量を横軸、細胞数を縦軸としたDNAヒストグラムデー



図2 セルタック Peak : FCM-2200



図3 DNA染色試薬 : FC-220V



図4 細胞単離キット



図5 測定ガイド画面

タを図示するとともに、MIを自動で算出することができる。

臨床サンプル測定データの例

本装置で測定したgliomaの症例データの一例を図6に示す。本データは、退形成星細胞腫(Anaplastic Astrocytoma)と診断された症例で、2Cとして検出された正常DNA量の細胞(左側のピーク)のほかに、もうひとつ細胞の集団(右側のピーク)が検出されている。これは組織中にDNA量が正常と異なるDNA Aneuploidyが含まれることを表し、MIは高い値を示す。

さいごに

本稿では、高DNA量測定装置 セルタックPeakとDNA染色試薬FC-220Vによる術中迅速フローサイトメトリーシステムを紹介した。全自動で10分という短時間で、摘出組織のDNA量の定量解析をすることが可能な本システムが、将来的にはglioma摘出術において、摘出組織が腫瘍性病変であることの確認、腫瘍の場合そのグレード

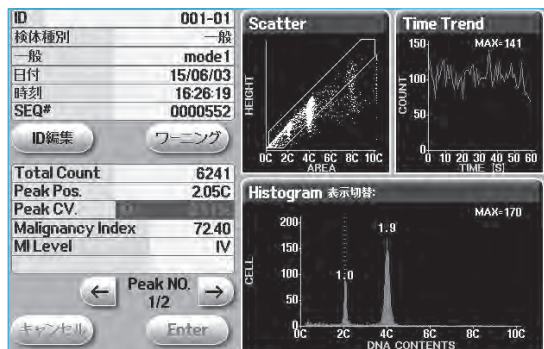


図6 測定データ例(glioma症例)

の推定、摘出終盤における摘出範囲の意思決定等のサポートツールとなることを期待する。また今後はgliomaに限らず、様々ながん治療における診断支援システムとして開発を進め、増え続けるがん患者の治療に貢献していきたいと考えている。

謝辞

本開発は、経済産業省「課題解決型医療機器の開発・改良に向けた病院・企業間の連携支援事業」(平成22年度)、国立研究開発法人 日本医療研究開発機構の「未来医療を実現する先端医療機器・システムの研究開発事業」(平成26年度～)の支援を受け開発された。

参考文献

- 1) Nitta M, Muragaki Y, Maruyama T, Ikuta S, Komori T, Maebayashi K, et al. Proposed therapeutic strategy for adult low-grade glioma based on aggressive tumor resection. Neurosurg Focus. 2015 ; 38 (1) : E7. doi : 10.3171/2014.10.FOCUS14651.
- 2) Muragaki Y, Iseki H, Maruyama T, Kawamata T, Yamane F, Nakamura R, et al. Usefulness of intraoperative magnetic resonance imaging for glioma surgery. Acta Neurochir Suppl. 2006 ; 98 : 67-75
- 3) 高本滋*, 鶴澤正仁, 中内啓光, 中原一彦, 東克巳, 藤川孝三郎, 村上知之, 渡辺卓 (* : 委員長) 日本サイトメトリー学会 標準化委員会 FCMによるDNA Aneuploidyの検索のガイドライン Cytometry Research 19 (1) : 1-9. 2009.
- 4) Kawamoto K, Herz F, Wolley RC et al. Flow cytometric analysis of the DNA distribution in human brain tumors. Acta Neuropathol. 1979 ; 46 (1-2) : 39-44.
- 5) Shioyama T, Muragaki Y, Maruyama T, Komori T, Iseki H. Intraoperative flow cytometry analysis of glioma tissue for rapid determination of tumor presence and its histopathological grade : clinical article. J Neurosurg. 2013 ; 118 (6) : 1232-8.