

固形組織フローサイトメトリの分析的妥当性の確立 方法の研究

メタデータ	言語: ja 出版者: 公開日: 2021-07-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 野村, 健一 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.20780/00032826

東京女子医科大学大学院医学研究科および
早稲田大学大学院 先進理工学研究科

博士論文概要

論文題目

固形組織フローサイトメトリの
分析的妥当性の確立方法の研究

Study on Establishment Method of Analytic
Validity of Flow Cytometry for Solid Tissue

申請者

野村	健一
Kenichi	NOMURA

共同先端生命医科学専攻 先端治療機器臨床応用・開発評価研究

2019年12月

フローサイトメトリは細胞ひとつひとつの特性を短時間に大量の数の細胞で調べることができる強力なツールで、発明以来、多くの研究で用いられてきた。一方、診断目的で行われる臨床検査におけるフローサイトメトリの利用状況は、血球計数をはじめとする血液学を中心に展開されてきた。それはフローサイトメトリの原理が、液中に分散した細胞を間隔をあけて一列に流すことで、ひとつひとつの細胞を独立して光学的に測定する方法であり、血液のように細胞が分散されている液状検体と親和性が高いためである。固形組織の検査にフローサイトメトリを利用する試みは研究では行われており、多くの研究成果が挙げられてきた。それにも関わらず、固形組織のフローサイトメトリはいまだ臨床検査としての実用化が進んでいない。固形組織のフローサイトメトリのひとつである術中迅速フローサイトメトリは、製品化はされたものの、診療報酬がなく、普及しているとは言えない。固形組織のフローサイトメトリに限らず、一般に、新しい医療技術は企業が開発に着手しても臨床で普及するまで到達できないことが多い。その原因は、その技術開発を企画し、スタートさせた者（企画者）が、技術開発の早期の段階で、その新技術が社会に受け入れられるかどうかを予測できないことにある。社会の様々なステークホルダのうち、新医療技術の普及に主だった役割があるステークホルダを「プレイヤー」と呼ぶことにすると、新医療技術の開発では専門性と価値観の異なる多様なプレイヤーが関わるのが、企画者の予見をより難しくさせている。新医療技術が社会に受け入れられるかどうかを予測するためには「1. プレイヤーはその技術の何を評価するのか」「2. その評価結果はどうなるか」「3. どんな評価結果であれば、プレイヤーは受け入れ可能と判断するか」を全て予測しなくてはならない。特に「1. プレイヤーはその技術の何を評価するのか」の予測が不十分であると、そのあとの2と3を予測しようと思うことすら無い。「何を評価するのか」の予測が不十分なまま、開発をスタートさせると、例えば、許認可審査時に想定外の評価項目が必要となった場合に、その評価結果によっては企画や製品に変更が必要になり、他の評価もやり直すといったことが起こり得る。これは時間的・人的・資金的なロスとなり、新医療技術が患者に届くのが遅延する原因となる。このことを防ぐためには、「何を評価するのか」を見渡し、その予測を助けるツールが企画者に必要である。

そこで、本論文は、「何を評価するのか」を見渡すツールとはどういうものであるべきかを明らかにし、そのツールを考案することを目的とする。さらに、考案したツールを使って、固形組織フローサイトメトリが臨床検査として普及していくためには何をすべきなのかを明らかにすることを目的とする。

本論文は以下に示す5章から構成される。

第1章では、固形組織のフローサイトメトリの臨床検査としての実用化が進まない現状と、その一般論として、新医療技術の開発は普及まで到達するのが難しいことを述べた。その原因は、新医療技術の製品化を企画する企画者が各プレイヤーが「何を評価するのか」を見通せないことにあり、それを予防するには「何を評価するのか」を見通すツールが必要であることを述べた。

第2章では、「何を評価するのか」を見通すツールを考案した。考案には、遺伝学的検査の許認可審査で「何を評価するのか」を明らかにするツールとして実績がある ACCE モデルをたたき台にした。ACCE モデルは5つの大項目に分かれた44個の質問で構成され、それらの質問に回答することで遺伝学的検査の許認可審査に必要な評価結果が得られるように作られている。そこで、遺伝学的検査とは大きく異なる医療技術を ACCE モデルに適用してみて、ACCE モデルではうまく回答できない質問を抽出した。また、評価されるべき項目であるのに ACCE モデルからは質問が欠如・不足している項目を抽出した。うまく回答できない質問は、質問を抽象的な表現に置き換え、不足していた項目は補充することで、多様な医療技術を対象とした「何を評価するのか」を見通すツールを考案した。ACCE モデルに適用させた医療技術は「痛風関節炎の再発予防を目的とした尿酸管理で、尿酸降下薬の投与量を決めるための治療効果を確認するための血清尿酸検査（以下、治療効果確認用血清尿酸検査と呼ぶ）」と「院外での心室細動を救命する目的で、非医療従事者が AED を用いて行う除細動治療（以下、AED と呼ぶ）」である。治療効果確認用血清尿酸検査は遺伝学的検査と同じ検体検査ではあるが、定量的な検査である点、治療効果の確認を目的に行われる点が遺伝学的検査とは異なり、それらに起因した ACCE モデルではうまく回答できない質問や不足の項目が抽出された。AED は、検査ではなく治療である点、非医療従事者が実施する点、患者に直接接触する点、電気機器である点が遺伝学的検査とは異なり、それらに起因した ACCE モデルではうまく回答できない質問や不足の項目が抽出された。抽出したうまく回答できない質問を抽象的な表現にし、不足の項目を補うことで、多様な医療技術を対象とした、「何を評価するのか」を見通すツール「抽象化 ACCE モデル」を考案した。たたき台にした ACCE モデルは遺伝学的検査の許認可審査で評価すべき項目の評価結果を明らかにするためのツールであるのに対して、抽象化 ACCE モデルは新医療技術の開発の早期の段階で企画者が「何を評価するのか」を見通すためのツールである。そのため、抽象化 ACCE モデルは、具体的な評価結果ではなく、評価項目を明らかにするものであった。

第3章では、固形組織のフローサイトメトリの具体的な医療技術である「術中迅速フローサイトメトリ」の普及を阻害している課題を明らかにする目的で、術中迅速フローサイトメトリに2章で考案した抽象化 ACCE モデルを使用し、評価しなければならない項目を明らかにした。さらに、それら評価項目を評価している文献をそれぞれ探し、評価した文献が存在しない項目を洗い出した。文献のない項目について、どのように評価すればよいかを調べた。その結果、「併行精度」は評価方法がなく、また、「併行精度」以外の評価項目は、併行精度が先に測定されないと評価できない項目であった。したがって、「併行精度の評価方法がないこと」が術中迅速フローサイトメトリの普及を阻害している最大の課題であることが分かった。

第4章では、その課題を解決することを目的に、術中迅速フローサイトメトリの併行精度の間接的な評価方法を考案した。併行精度とは、「同一と見なせるサンプルを、同じ方法を用い、同じ施設で、

同じオペレータが、同じ装置を用いて、短時間のうちに繰り返し測定して得た独立した測定結果間の一致の程度」である。術中迅速フローサイトメトリは脳腫瘍摘出術で摘出した組織サンプルが腫瘍組織か正常組織かを判断する目的の検査で、術中にその組織サンプルに含まれる高 DNA 量細胞の比率を測定する。高 DNA 量細胞とは、G0/G1 期細胞よりも多く DNA を含む細胞で定義され、S 期細胞、G2 期細胞、M 期細胞、そして、DNA aneuploid 細胞が該当する。高 DNA 量細胞は正常な脳組織には少なく、腫瘍組織には多く存在している。そのため、高 DNA 量細胞の比率 (Malignancy Index) を測定することで、その組織サンプルが腫瘍か正常かを区別することができる。この術中迅速フローサイトメトリの併行精度を直接測定するためには、同一と見なせるサンプルとして Malignancy Index が同じ組織サンプルが必要となる。しかし、ある Malignancy Index である組織サンプルを 2 つに分割しても、腫瘍の不均一性から、同じ Malignancy Index とはならない。したがって、同じ Malignancy Index の組織サンプルを用意することはできず、術中迅速フローサイトメトリは直接的に併行精度を評価することは原理的に不可能であった。そこで、代替指標として単一細胞比率 α を定義し、単一細胞比率 α の併行精度を評価することで、間接的に術中迅速フローサイトメトリの併行精度を評価できることを示した。術中迅速フローサイトメトリは、固形の組織サンプルを細胞分散処理で細胞浮遊液にし、それをフローサイトメトリで測定する。フローサイトメトリは細胞がひとつひとつ分かれていることを前提とした測定法なので、細胞分散が不十分なために細胞浮遊液に 2 つ以上の細胞がくっついた粒子 (細胞塊) があると、術中迅速フローサイトメトリの検査結果が偽高値になる。この関係を定量的に解析すると、細胞浮遊液中の単一細胞の割合と定義した単一細胞比率 α の併行精度と術中迅速フローサイトメトリの併行精度が比例することが分かった。そこで、単一細胞比率 α の併行精度を測定する評価系を考案し、それが併行精度の評価方法に求められる条件「低コスト、短時間、実施しやすい」を満たしていることを確認した。併行精度は、術中迅速フローサイトメトリの研究段階、早期の開発段階、そして、市販後の段階で反復的に評価される。研究段階、開発段階では細胞分散法を含む術中迅速フローサイトメトリの方法を改良するたびに併行精度は評価される。市販後は、術中迅速フローサイトメトリで臨床検体の検査作業を実施する者が、検査の精度管理をする目的で、また細胞分散の手技の練習・技能の確認をする目的で、定期的に併行精度を評価する。そのため、併行精度の評価方法には「低コスト、短時間、実施しやすい」という条件が必須である。よって、考案した単一細胞比率 α の併行精度の評価方法がその条件を満たしていることを実験で確認した。

5 章では、本論文の成果を要約し、本論文全体の考察、限界、展望、結論を論じた。本論文で考案した抽象化 ACCE モデルは、新しい医療計測や治療を行う様々な機器、検査法の開発において、企画の段階から課題を整理する手段として有用であろう。また、抽象化 ACCE モデルを適用することで明らかになった術中迅速フローサイトメトリの普及を阻害する最大の課題は本論文で解決した。残された評価項目を引き続き評価することで、術中迅速フローサイトメトリの普及は進むと予想される。

早稲田大学 博士（生命医科学） 学位申請 研究業績書

氏名 野村健一 印

(2020年 2月 現在)

種 類 別	題名、 発表・発行掲載誌名、 発表・発行年月、 連名者（申請者含む）
論文	○1) <u>Kenichi Nomura</u> , Kyojiro Nambu, Ken Masamune, A stochastic measurement model to evaluate the repeatability of intraoperative flow cytometry, <i>Cytometry Research</i> . (Accepted)
講演	<p>1) 細胞分散手法の性能評価方法の研究 日本生体医工学会 専門別研究会 第13回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会, 2017年2月18日 <u>野村健一</u>, 伴知晃, 大竹正則, 神尾直, 南部恭二郎, 正宗賢, 伊関洋</p> <p>2) 細胞分散手法の性能評価方法の研究 日本生体医工学会 専門別研究会 第14回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会, 2017年8月26日 <u>野村健一</u>, 伴知晃, 大竹正則, 神尾直, 南部恭二郎, 正宗賢, 伊関洋</p> <p>3) Development of brain surgery assistance system that integrate forceps with continuous tumor resection function and tumor cell isolation device The International Society for Computer Aided Surgery, June 17-21, 2019 Nagame T., Hanafusa A., Shimizu F., Koguchi T., Masamune K., Muragaki Y., Iseki H., <u>Nomura K.</u></p>
その他 講演	<p>1) 生体センシング技術を活用した自動車運転者の異常時対応システムの承認制度及びその審査に関する考察 日本生体医工学会 専門別研究会 第14回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会, 2017年8月26日 伴知晃, 南部恭二郎, 敷島義昭, <u>野村健一</u>, 大竹正規, 小島成浩, 林直孝, 有馬毅彦, 伊関洋, 正宗賢</p> <p>2) 高山病予防を目的としたウェアラブル生体情報による安全管理の研究 日本生体医工学会 専門別研究会 第15回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会, 2018年3月24日 平野朝士, 原田智紀, 伊関洋, 正宗賢, <u>野村健一</u>, 相沢信</p> <p>3) 医療機器の早期導入を目指す制度がもたらす作用の研究 ～「医療ニーズの高い医療機器等の早期導入に関する検討会」制度を中心に～ 日本生体医工学会 専門別研究会 第15回医療機器に関するレギュラトリーサイエンス研究会, 2018年3月24日 大竹正規, 伴知晃, <u>野村健一</u>, 南部恭二郎, 正宗賢, 伊関洋</p>