



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肝外胆管癌における好中球細胞外トラップ発現の意義と術前胆管炎および臨床病理学的因子との関連性に関する研究
Author(s)	山本, 寛之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第17036号
Issue Date	2026-06-30
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k17036
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/100089
Type	doctoral thesis
File Information	YAMAMOTO_Hiroyuki_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 山本 寛之

審査担当者	主査	教授 小野 尚子
	副査	教授 武富 紹信
	副査	教授 園下 将大

学 位 論 文 題 名

肝外胆管癌における好中球細胞外トラップ発現の意義と
術前胆管炎および臨床病理学的因子との関連性に関する研究
(Studies on Neutrophil Extracellular Traps and Its Association with Preoperative Cholangitis and
Clinicopathological Factors in Patients Who Underwent Surgical Resection for Extrahepatic
Cholangiocarcinoma)

申請者は肝外胆管癌において、免疫組織化学染色により好中球細胞外トラップ
(neutrophil extracellular traps : NETs) を臨床的に評価可能であることを確認し、新たな独立予後予測因子としての可能性を示した。

審査にあたり、副査の武富紹信教授より NETs を放出した後の好中球はどのような経過を辿るのかと質問があった。申請者は NETs を放出する好中球は核膜や細胞膜が破綻して DNA を放出するため、細胞死となることが多いが、細胞膜を保ったまま NETs を放出することもあり、細胞として機能を維持することもあると回答した。次に、NETs 形成のトリガーについて質問があり、申請者は、炎症や感染であれば細菌や真菌などが挙げられ、腫瘍の場合は微小環境から産生されるサイトカインなどが好中球を動員し NETs 形成を誘導すると回答した。次に、今回の研究で免疫組織化学染色の Cit-H3 で NETs を評価したが、NETs であることの証明について質問があった。申請者は Cit-H3 は PAD4 によるヒストン H3 のシトルリン化を反映し、NETosis に伴うクロマチン脱凝縮を示す代表的なマーカーとして広く用いられていること、本研究でも、Cit-H3 単独で判断するのではなく、MPO との共局在、CD15 陽性好中球周囲での細胞外発現、PAD4 発現を確認することで妥当性を補強したと回答した。続いて、NETs を同定するにあたり追加でどのような方法があるかとの質問があり、申請者は免疫染色が定性的な評価であるため、血液中の NETs 関連マーカーを測定するなど定量的な評価も行い、その量と術後予後との関連を検討することで NETs が予後不良に関与するというさらに強い証拠になる可能性があると回答した。

副査の園下将大教授からはシトルリン化の機序について質問があり、申請者は、ヒストン中のアルギニン残基の DNA 結合が緩みクロマチンが脱凝縮することで、NETs 形成につながると回答した。次に、染色条件・抗体希釈についてどのように設定したか質問があり、申請者は、病理部で使用している陽性コントロールを用いて設定していると回答し、本文中へ追記する方針とした。続いて、Cit-H3 が細胞外にあるとどのように判断しているかと質問があり、申請者は細胞内であれば 1 つ 1 つの細胞としてカウントできるが、今回の免疫染色の結果では明確な細胞境界を認めず、網状に広がっている所見から細胞外にあるものと判断したと回答した。次に、原発巣の NETs がどのように再発に関わっているかとの質問があり、申請者は NETs が循環腫瘍細胞を捕捉し、血管内皮への接着や転移巣形

成の一助を担っていることから、原発巣に NETs があることで再発しやすい腫瘍微小環境や全身性炎症環境が形成されている可能性があること、ただし、本研究では直接的な機序までは証明できておらず、今後の検討課題であることを回答した。また、図の中にスケールバーを追加することと解像度をあげる必要性について言及があった。

主査の小野尚子教授からは、実際に手術する際には胆管炎はコントロールされていたのかという質問があり、申請者は炎症が消退したところで手術を行なっていると回答した。また、胆管炎を起こした患者の検体には炎症が残っているのかと質問があり、申請者は多くの症例ではステントが入っているため、胆管炎による炎症かステントによる物理的な炎症かの区別は困難であると回答した。次に、今回の研究では 1 枚の切片から NETs の有無を評価したが、腫瘍全体を評価できていない点についての質問があった。申請者は腫瘍を代表する切片で定性的な評価を行ったが、量的評価ができていない点は本研究の大きな限界であると回答した。最後に、術前診断に応用する方法はあるかとの質問があり、申請者は血液や胆汁、EUS-FNA 検体などで NETs 関連マーカーを調べることが考えられると回答した。しかしながら、NETs があるとわかっても NETs を標的とした治療が確立していないため、今後の課題であることも付け加えた。

この論文は、肝外胆管癌において免疫組織化学染色の Cit-H3 発現により NETs を臨床的に評価し、独立した予後不良因子であることを示した点において高く評価され、今後の術後補助療法やサーベイランスの層別化、さらに NETs 標的治療の発展への寄与が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。