



Title	遺伝子発現プロファイルに基づく膵癌の免疫組織化学的サブタイピング法の確立 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	丸川, 活司
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13257号
Issue Date	2018-06-29
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/71256">http://hdl.handle.net/2115/71256</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2422
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Katsuji_Marukawa_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

## 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 丸 川 活 司

主査 教 授 坂本 直哉  
審査担当者 副査 准教授 七戸 俊明  
副査 教 授 本間 明宏  
副査 教 授 武富 紹信

### 学 位 論 文 題 名

遺伝子発現プロファイルに基づく膵癌の免疫組織化学的サブタイピング法の確立  
(Establishment of immunohistochemical subtyping of pancreatic  
cancer based on gene expression profile)

申請者は浸潤性膵管における分子サブタイピングに資する分子として、網羅的遺伝子発現解析より選択されたシグニチャー構成分子の中でも、予後に有意差のみられる CL タイプと QM タイプの複数の分子に着目し、これら遺伝子発現を代替 (サロゲート) する IHC サブタイピング法の確立に関する検討を行った。解析対象分子は、既報の網羅的遺伝子発現解析より選択されたシグニチャー分子のうち、それらの機能等に着目し、CL タイプ 6 分子 (TSPAN8, S100P, MUC13, TFF1, TFF3, LGALS4) と、QM タイプ 6 分子 (CAV1, KRT14, S100A2, NT5E, PHLDA1, HK2) を選択し、各分子の発現と予後を含む臨床病理学的因子との関係を解析した。また、マーカー分子の発現状態を指標に症例選択を行い、レーザーマイクロダイセクション (LCM) を用いて FFPE 組織から腫瘍 RNA を抽出後マイクロアレイ解析を行い、各症例の遺伝子発現が既報の遺伝子シグニチャーと一致しているかを検証し、IHC サブタイピングのマーカーパネルの妥当性を評価した。さらに膵癌治療開始前の確定診断を目的として採取された EUS-FNA 検体 183 症例を対象に、サロゲートマーカーであることが示唆された候補分子と予後との関係を解析した。

発表後、副査の七戸准教授から、予後不良マーカーとした NT5E, CAV1 を用いて EUS-FNA に関する検討を行っているが、診断後の治療に関するデータを組み合わせた場合の解析結果について、および今回サロゲートマーカーとして候補分子に挙げた 4 分子で今後実臨床に応用できるか否かについて、質問があった。申請者は EUS-FNA が施行された患者のうち化学療法が施行された症例群の解析結果においても有意差が確認されていることを報告した。また、今回挙げたサロゲートマーカー 4 分子では QM タイプをサロゲートするには有用であると考えているが、CL タイプをサロゲートするには十分とは言えず、最近入手可能になった更なる CL タイプの一次抗体を用いた追加検討が必要であると回答した。同じく本間明宏教授からは、既報の網羅的遺伝子発現解析より選択されたシグニチャー分子からどの様な根拠で CL/QM タイプをサロゲートする候補分子を選んだか、および IHC を用いた CL/QM タイプのサロゲートが可能であったか否か、について質問があった。申請者は既報の

シグニチャー分子である 42 の分子について、The Cancer Genome Atlas (TCGA) や Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) のデータベースを用い全ての分子を調査し、正常膵細胞と膵癌細胞株における遺伝子発現幅の大きい分子の中から実臨床に応用可能で入手可能な抗体を選び、生存解析結果から CL マーカーとして 1 分子、QM マーカーとして 3 分子の候補分子を挙げることができた。その際、臨床病理学的因子を含めた多変量解析から残った因子は QM マーカーの NT5E のみであったことから、QM マーカーをサロゲートする候補分子を挙げることは出来たが、CL タイプについては更なる検討が必要であると回答した。同じく武富紹信教授からは浸潤性膵管癌はヘテロな組織型を示すが、TMA を用いた研究としての妥当性と EUS-FNA 検体を用いた際の評価の正確性について質問があった。申請者は TMA 作製時に全ての症例で膵臓病理をサブスペシャルティとする病理専門医と形態学的評価を検証し、各症例において組織像の異なる腫瘍部位 2~4 か所を選択していることからヘテロな組織型を考慮した選択を行ったと判断していると回答した。また、EUS-FNA 検体では微小な検体を扱っていることから評価は慎重であるべきであり、前向き研究で予め標本薄切枚数を増やすことや同一患者の手術検体における検証など、更なる検討が必要であると回答した。また、武富紹信教授より、本研究では膵癌予後を予測するマーカーとしていくつか有用であると報告されたが、CL/QM タイプをサロゲートすることの本質は治療選択にあり、今後、化学療法を含めた治療に関するデータも追加し検討するべきであるとの助言があった。主査の坂本教授からは、RNA を用いたマイクロアレイ解析によるクラスター解析のヒートマップに対して、検出シグナルの感度不足の理由と、CL/QM タイプのシグニチャー分子の発現と予後から 4 分子をサロゲートマーカーの候補分子として挙げていたにも拘わらず、EUS-FNA の検討では CAV1 と NT5E のみで行った理由について質問があった。申請者は本研究で用いた膵癌の FFPE 組織検体は比較的古い症例を用いていたため、抽出した RNA が相対的に低品質であり、今後高品質の FFPE 組織検体での追加検証が望ましいと回答した。また、IHC サブタイプピンクマーカー 4 分子のうち、予後との関連性において統計学的比重が高かった QM マーカーである CAV1 と NT5E を用いたこと、また、EUS-FNA 検体量が僅少であるため多数のマーカーを検討することが困難であったと回答した。

この論文は、浸潤性膵管癌の予後に有意差のみられた遺伝子発現を代替 (サロゲート) する IHC サブタイプピンクの研究手法において高く評価され、今後、同様の手法を用いることにより、患者の予後予測のみならず、膵癌薬物治療の個別化に向けた診断法開発に寄与する可能性を示すことができ、さらに膵癌の術前診断によって決定される治療選択肢への応用が期待される。

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。