



Title	膵嚢胞性腫瘍関連膵癌の発生機構の多様性に関する分子病理学的解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大森, 優子
Description	配架番号 : 2367
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12988号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70391
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuko_Omori_review.pdf, 審査の要旨



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 大森 優子

	主査	教授	篠原	信雄
審査担当者	副査	教授	平野	聡
	副査	教授	武富	紹信
	副査	教授	本間	明宏

学 位 論 文 題 名

膵嚢胞性腫瘍関連膵癌の発生機構の多様性に関する分子病理学的解析 (A revised model of clonal evolution of intraductal papillary mucinous neoplasm-related pancreatic carcinogenesis)

膵管内乳頭粘液性腫瘍、以下 IPMN は、乳頭状発育、粘液産生を特徴とする膵嚢胞性腫瘍である。IPMN 関連膵癌は、IPMN が癌化する由来癌と、IPMN とは別部位に発生する併存癌に大別されるが、それらの生物学的特性は明らかでない。IPMN と浸潤癌の位置関係、背景膵の微小膵管病変の分布、それらの遺伝学的異常の関連付けにより、IPMN を背景として発生する膵癌進展ルートの層別化を試みた。IPMN 関連膵癌 33 病変の外科切除材料において、IPMN、浸潤癌、背景膵の微小膵管内病変を個別に採取し、*KRAS*, *TP53*, *SMAD4*, *CDKN2A/p16*, *GNAS* を含む膵癌関連 18 遺伝子を網羅する custom panel を用い、targeted amplicon sequencing を行った。また、免疫組織化学的に p53, SMAD4, p16, β -catenin, RNF43 の蛋白発現を解析した。形態・位置情報と分子プロファイルから、IPMN 関連膵癌の進展ルートは、IPMN の遺伝子異常を継承する Sequential, IPMN と独立したクローンから発生する *de novo* に加え、共通の初期クローンを母地に、IPMN と浸潤癌が異なる遺伝子異常を獲得し分岐する Branch-off からなる 3 つの molecular subtype に分類された。本分類は IPMN を背景とした膵発癌のサーベイランスにおいて、クローン多様性を念頭において新規リスク予測アルゴリズム構築の上で基盤的知見となり得る。

審査にあたり、副査の本間教授から IPMN 患者で癌が発生しやすい理由について質問があり、申請者は、field defect による多発病変の一部が臨床的に明らかな IPMN として発見の指標となっているためと胚細胞変異との関連があると回答した。また病変間距離測定法について質問があり、申請者は、同一切片においては実測値であるが、切出面に垂直方向の距離測定では 5mm 以下の誤差が生じ得る。隣接併存癌の定義を 5mm 以下と設定した理由の一つであると回答した。本間教授、副査の武富教授より、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション（以下、LCM）を用いた詳細な解析結果だが、molecular subtype 分類の一般化は可能なのかとの質問があり、申請者は、腫瘍の近接部位を避け組織採取することで一般化は可能であると回答した。武富教授より、併存癌が発生する IPMN は IPMN 自体の浸潤癌化は生じないのか、また由来癌が発生する遺伝子変異が蓄積した IPMN では併存癌の発生は頻度が低いのか、との質問があり、申請者は、併存癌と由来癌が同時に発生する例は稀である。本研究では、IPMN という疾患群の中で、IPMN 由来癌として膵癌が発生

しやすい膵臓・患者、branch-off もしくは de novo の併存癌として膵癌が発生しやすい膵臓・患者の特徴の一部が明らかとなり、層別化する意義があると回答した。平野教授より、遺伝子変異と蛋白発現の相関性について質問があり、申請者は、*p53* と *RNF43*, *CTNNB1* は遺伝子変異と蛋白発現に相関性が見られたが、*CDKN2A/p16* と *SMAD4* では相関性が低く、その原因として、遺伝子変異のみならず、エピジェネティックな異常や copy number variation 異常が多いためと回答した。また、Sequential subtype が残膵再発した症例での再発様式について質問があり、申請者は、初発病変・再発病変が同一の *KRAS*, *GNAS* プロファイルを有したことから、膵管内播種が原因と考えていると回答した。申請者は IPMN 再発症例 8 例の遺伝子解析を行い、全例、初発と再発病変で遺伝子変異プロファイルの同一性が示され、膵管内播種を支持する結果であったことを報告した。最後に、篠原教授より、隣接併存癌の定義を 5mm に設定した理由について質問があり、申請者は 5mm スライスされた膵切除材料を用いたためと、*KRAS* 変異の相違性と距離の関係のサブ解析から、優位性が出た cut-off 値が 5mm であったと回答した。また 4 名の審査員より、予後解析の結果について質問があり、申請者は、branch-off が予後良好であるとすれば、重要な臨床学的特徴となるが、本研究では各群 10 例と少数例での検討であり、サンプリングバイアスも懸念され、症例数を増やした検討が課題であると回答した。主査の篠原教授より、膵液を用いた液体生検の有用性について質問があり、申請者は膵液もしくは十二指腸液の液体生検で、*KRAS*, *GNAS*, *TP53* の遺伝子解析が可能であり、将来的にスクリーニングの modality として、*KRAS* 変異の有無および検出される変異バリエーションの多彩性からの背景膵リスクの類推や、*TP53*, *SMAD4* をターゲットとした高異型度病変および浸潤癌の早期発見への寄与に期待していると回答した。また主膵管主体で膵管内播種が生じている病変と、微小膵管病変が主体の病変での膵液 DNA 量の違いについて質問があり、申請者は腫瘍の分布と膵液・十二指腸液の変異同定の感度についてのデータはないが、腫瘍分布と検出 DNA 濃度の関連性については癌化リスクの層別化に重要な知見であり、今後の課題であると回答した。

この論文は、IPMN 関連膵癌を Sequential type, de novo type, Branch-off type からなる 3 つの subtype に分類できることを明らかにした。本分類は IPMN を背景とした膵発癌のサーベイランスにおいて、クローン多様性を念頭においた新規リスク予測アルゴリズム構築の上で基盤的知見となり得ることが期待される。

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。