HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	超音波内視鏡下穿刺吸引法による検体を用いた胆道癌ゲノム解析の研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	平田, 幸司
Description	配架番号：2558
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14092号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77926
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Koji_Hirata_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　平田　幸司

審査担当者	主査	教授　篠原　信雄
	副査	教授　平野　聡
	副査	教授　村上　正晃
	副査	准教授　神山　俊哉

学 位 論 文 題 名

超音波内視鏡下穿刺吸引法による検体を用いた胆道癌ゲノム解析の研究
(A novel approach for the genetic analysis of biliary tract cancer specimens obtained through endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration using targeted amplicon sequencing)

本研究において申請者は、胆道癌に対する超音波内視鏡検査（EUS-FNA）が病理学的診断をおこなうにあたり安全かつ有効であることに注目し、EUS-FNA により採取した胆道癌組織の DNA の質、濃度や遺伝子解析の適格性、および病原性遺伝子変異の解析率等について検討した。申請者は対象となった 21 例の組織から抽出した DNA の精製をそれぞれ十分におこない，良質かつ適した濃度のライブラリを作成できたことを示した。また施行したターゲットシーケンスの質も良好であり、全体で 39 遺伝子のうち 80 の single nucleotide variant（SNV）および 8 の INDEL（挿入欠失）を同定し、これらの解析の結果 14 遺伝子のうち 28 の病原性変異を有意な変異として同定した。病原性遺伝子は 21 例中 20 例（95.2%）と高頻度で同定可能であり、8 例で治療の対象となりうる遺伝子変異を検出した。以上より、EUS-FNA という手技で採取した胆道癌組織は微小ではあるものの、質の高いターゲットシーケンスを行うことは可能であり、本研究に用いた手法は分子標的治療を検討するうえでも臨床応用が可能であることを示した。

審査にあたり、副査の平野教授から、本研究における胆道癌に対する遺伝子解析の方法および結果について、既報との相違点について質問があり、既報は手術検体により採取された多量の腫瘍組織に対する解析である一方、本研究では FNA という新しい手法で採取した微小な腫瘍組織に対する遺伝子解析であることが方法として大きな相違点であると申請者は説明した。結果としては胆嚢癌でやや KRAS 変異が多い傾向であったが、他は肝内胆管癌の KRAS、IDH1 や胆嚢癌の HER2 など、部位別の頻度については既報と遜色ないことを説明した。また本研究では経乳頭的生検にて診断がつかなかった症例に対して EUS-FNA を施行しているが、今後の展望としても同様のストラテジーで診断をおこなっていくべきかという質問があり、申請者は胆汁の漏出による腫瘍細胞の播種や、腫瘍細胞をより多く採取することを考慮すると、肝外胆管癌においては経乳頭的生検を初回検査として施行するべきだが、一方で胆汁の漏出による播種のリスクが低い転移性リンパ節や内腔が腫瘍で充満している胆嚢癌や肝内胆管癌において、特に手術不能の症例については安全な EUS-FNA を初回検査として施行することを検討すべきと説明した。副査の村上教授からは、胆道癌の発症頻度の地域差がある理由について質問があり、申請者は胆管癌が東南アジアに多い理由として肝吸虫

の胆管寄生が、胆嚢癌が南米に多い理由はサルモネラの胆嚢感染が理由として報告されているのと、あとは人種差が関連している可能性もあると説明した。また部位ごとに遺伝子変異に差がある理由について質問があり、申請者は癌化の由来となる胆道上皮細胞の起源が異なることが理由として挙げられる旨を説明した。副査の神山准教授からは、EUS-FNA の起こりうる合併症やその頻度について質問があり、申請者は起こり得る合併症として出血・感染・膵炎といったものが挙げられるが、既報ではその頻度は 2%以下であると説明した。また ERCP 関連手技では十二指腸穿孔の症例もあるが、今回検討した症例を含め、EUS-FNA による十二指腸穿孔の症例はあるかという質問があり、申請者は十二指腸に強い浸潤を示し十二指腸狭窄を生じている膵頭部癌で、内視鏡が狭窄を突破する際に十二指腸穿孔が起こる可能性はあるが、胆道癌においては十二指腸狭窄をきたす症例が少ないということと、仮に腫瘍による十二指腸狭窄があったとしても、EUS-FNA は ERCP 関連手技と異なり、十二指腸狭窄部をこえてスコープを挿入する必要がなく、狭窄の手前からスキャンして穿刺することが可能なため、穿孔のリスクは低く、実際に報告されている穿孔症例は調べる限りないということを説明した。最後に主査の篠原から、今回の検討で印刷業従事者の症例が存在したかどうかと、職業歴のある胆道癌症例で特異的な遺伝子変異があるという既報があるかどうかについて質問があり、申請者は全例で職業歴については聴取しているが今回の症例では印刷業従事者はいなかったことと、既報にも職業歴毎に胆道癌遺伝子解析を行なっている報告はないと説明した。

このように申請者はこれらの質問に対して自らの研究結果や先行研究の成果に基づいて概ね妥当な回答を行った。

この論文は、Clinical and Translational Gastroenterology に受理され、また国内外の学会において高く評価されており、今後の切除不能進行胆道癌の治療分野において、重要な情報を提供す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充分な資格を有するものと判定した。