HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肝外胆管癌のリンパ節転移細胞の分子生物学的特徴の解析［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	山田, 徹
Description	配架番号：2732
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15208号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87681
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	YAMADA_Toru_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　　山　田　　徹

	主査	教授	武　冨　紹　信
審査担当者	副査	准教授	加　藤　徳　雄
	副査	教授	近　藤　亨

学 位 論 文 題 名

肝外胆管癌のリンパ節転移細胞の分子生物学的特徴の解析
(The analysis of molecular biological characteristics of cells metastasized to lymph node from extrahepatic cholangiocarcinoma)

この研究では，肝外胆管癌の原発巣とリンパ節転移巣の遺伝子異常の差異を明らかにすべく，16 例の肝外胆管癌患者の原発巣とリンパ節転移巣の検体を対象に，160 のがん関連遺伝子の遺伝パネル解析を行っている。

審査にあたり，まず副査の加藤徳雄准教授から，症例選択において pT4 の症例を除外した理由について質問があった。申請者は研究計画の段階で，遺伝子異常と術後予後との関係について検討を行うことを当初より予定していたため，強力なバイアスとなると考えられる pT4 症例を除外して検討したと回答した。また，リンパ節転移の個数について検討を行ったのかと質問があり，申請者は，個数で分けての検討は行っておらず，リンパ節転移の有無のみで検討していると回答した。また，リンパ節転移が多数認められる症例で遺伝子変異の個数が多いといった相関はあったのかと質問があり，申請者は遺伝子変異の多かった症例で特にリンパ節転移の個数が多いという相関は見出せていないと回答した。また，現在の胆管癌の標準治療はどういったものかという質問があり，申請者は，明確に確立したものではないが，切除不能進行胆道癌については 2010 年の clinical trial で GEM と GEM＋CDDP との比較が行われ，CDDP の上乗せ効果が示されており，非切除の進行胆道癌において標準的な治療法と思われると回答した。また，術後補助療法としては JCOG1202 の結果が 2022 年に報告されており，切除可能な胆道癌において，手術単独群と比較して術後 TS-1 を 4 コース施行した群が有意に予後良好であり，今後，術後補助療法の標準となってくるものと思われる，と回答した。最後に，今回の知見が今後の治療戦略にどう反映されるのかと質問があり，申請者は，GEM＋CDDP や TS-1 の治療効果が示されてはいるが，成績としては決して十分とはいえず，それに代わる新規の治療法開発，具体的には分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬の選択に際しての重要な判断材料となると思われる，と回答した。

副査の近藤亨教授からは，肝外胆管癌の genomic heterogeneity を調べる上で FFPE の組織から何箇所くらい検体を取ってきて検討をすれば heterogeneity の検討ができるのか，と質問があった。申請者は，明確に何箇所取ればいいという数値はないが，本来的には複数箇所取って検討

するべきである。しかし，限られた研究費のなかで症例数を多くしたいという意図もあり，リンパ節転移巣については 1 箇所のみ，原発巣についても主要な 1 切片のみで検討を行ったと回答した。また，再発の原因となるリンパ節転移先の癌細胞の分子生物学的特徴についての研究であれば，もっとリンパ節転移巣に焦点を絞って検討をするべきではないか。実際の研究結果を見ても，原発巣と転移巣で結局 1 個の遺伝子変異しか違いが見つかっておらず、さらに CNA については原発巣と転移巣で共通していたのは 1 症例のみである。リンパ節転移巣の検討をするはずが，逆に原発巣でのみ見つかった CNA が複数あったということが，学位論文として示すデータとしてどれほど重要であるのか，そこに関しての discussion が不十分であると思われる。CNA の結果を見てしまうと，BRAF など癌でよく発現が亢進していると言われるものが原発巣でのみ認められ，リンパ節転移巣では全く認められないという結果であり，リンパ節転移巣の癌細胞が再発の原因であるという前提に対して，全く逆の結果になってしまうのではないか，と質問があった。申請者は，原発巣とリンパ節転移巣の遺伝子異常の比較検討が胆道癌では全くなされていないという背景で，当初は mutation についてはリンパ節転移巣で何らかの新規の mutation の蓄積が見つかるのではないかと考えていたが，結果としては原発巣とリンパ節転移巣で mutation プロファイルはほとんど同じで，新規の mutation は 1 例でしか検出されないという結果であった。また，CNA については mutation と同じような動きをするのではないかと考えていたが，結果としては一致率が低く，原発巣でのみ認められる CNA が多いという結果であり，その原因としては，研究の手法が不十分であり，CNA が十分な精度で検出されていない可能性も考えられる，と回答した。

最後に，主査の武冨紹信教授から，症例によってリンパ節転移の状況も様々であると思われるので，例えば，リンパ節転移の 1 群・2 群・3 群にわけてどういった差があったのか，あるいはリンパ節転移個数によって遺伝子異常に差があったのか，などといった検討をするべきではないか。実際にはリンパ節転移巣も 1 個しか検討しておらず，タイトルと合わないように思われる。結果的には，原発巣を調べればいい，という結論になっている，とのコメントがあった。また，研究結果では遺伝子変異が 5 個以上の 4 例について MST は 10 ヶ月程度であり，切除不能の進行胆道癌の MST が 11〜13 ヶ月程度であることを考えると，そういった症例については，侵襲が高く合併症の頻度も多い手術を敢えてする必要がないということになる。術前に遺伝子異常のプロファイルを調べ，個数が多ければ手術をせずに化学療法を優先するべきという判断ができる可能性がある。今回の検討で，遺伝子変異が 5 個以上となった 4 症例の mutation プロファイルについて，基本的にこの 3 遺伝子は変異していたとか，何か偏った遺伝子変異はなかったのか，と質問があった。申請者は，最も頻度の高かった TP53 については 4 症例に共通して変異が認められたが，その他の変異の分布は症例によって様々であり，特に共通する変異遺伝子や pathway の偏りなども見いだすことはできなかった，と回答した。最後に，もしそういった特定の遺伝子が突き止められれば，パネル検査をせずとも，その特定の遺伝子変異の有無のみを術前の biopsy や liquid biopsy で調べることで，手術をせずに化学療法をした方がいいという判断ができる可能性もある。そこまでのより深い考察をして欲しい，とのコメントがあった。

本研究は肝外胆管癌のリンパ節転移の分子プロファイルを明らかにするという点において評価され、今後肝外胆管癌の病態解明や臨床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充分な資格を有するものと判定した。