



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肝芽腫におけるDNA メチル化解析に基づく新規リスク層別化モデルの検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	近藤, 享史
Description	配架番号 : 2800
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15574号
Issue Date	2023-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90399
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	KONDO_Takafumi_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 近 藤 享 史

	主査	教授	平野	聡
審査担当者	副査	教授	本間	明宏
	副査	准教授	岩永	ひろみ

学 位 論 文 題 名

肝芽腫における DNA メチル化解析に基づく新規リスク層別化モデルの検討
(Study on the novel risk stratification model based on DNA-methylation analysis for
Hepatoblastoma)

申請者は肝芽腫における臨床的予後因子を統合した Children's Hepatic tumors International Collaboration-Hepatoblastoma Stratification (CHIC-HS) に、DNA メチル化解析に基づく分子学的予後因子を統合し、より有用なリスク層別化モデルを作成する事を目的として検討を行った。*RASSF1A*、*PARP6*、*OCLAD2*、*MST1R* の 4 遺伝子の高メチル化の定量的評価が予後因子として有用であることを示し、これら 4 遺伝子のうち 2 遺伝子以上高メチル化した遺伝子を認めることが既存の臨床的因子とは独立した強力な予後因子であることを示した。さらに CHIC-HS にこれら 4 遺伝子の DNA メチル化状態の評価を組み込んだ新分類である methylation based CHIC-HS を提唱し、CHIC-HS の評価をさらに適正化しうる事を示した。また 4 遺伝子のメチル化状態と発現状態の検討についても報告した。

審査にあたり、まず副査の本間教授より年齢が上がるに従って遺伝子が高メチル化することの背景と、年齢と悪性度の関わりについて質問があった。申請者は年齢増加に伴い、炎症などの様々な要素によりメチル化酵素が誘導され高メチル化が生じること、年齢の高い患児においては肝芽腫と肝細胞癌の混在した腫瘍が見られるようになり、そうした腫瘍の分子学的背景は典型的な肝芽腫とは異なっており、発生母地となる肝細胞の発生段階の違いを反映していると考えられていると回答した。次に、単変量 Cox 解析の結果から *RASSF1A* のみの評価と 4 遺伝子の組み合わせでのハザード比が近いことへの指摘があったが、申請者は単一遺伝子の評価に比べて高い値を示していること、Log-rank 検定では各遺伝子の高メチル化を認めるほど予後が不良となる傾向を認めていることから、複数遺伝子の評価を採用したと回答した。最後に、コストに関して質問があり、申請者は 1 症例辺り網羅的解析の 1 % 程度のコストで施行可能と見積もっていると回答した。

次に副査の岩永准教授より、肝臓の層的構造などが完成するのにはヒトでは意外に遅いことが知られており、メチル化のみならず発生における肝臓独特の要素が発癌に影響を与えている可能性があること、また、高メチル化が必ずしも遺伝子発現の抑制に繋がらないことも知られてお

り、本研究において遺伝子のメチル化が強い予後因子であったことは重要な知見を含んでいる可能性があるとのコメントがあった。最後に、治療に関してそれらの遺伝子のメチル化の細胞における機能の検討が、今後テラーメイド治療に繋がっていくであろうとのコメントがあった。申請者は、その点が本研究における今後の検討課題であり、単純に今回検討した遺伝子が治療ターゲットとなり得るわけではないこと、脱メチル化剤は非特異的な作用であり、正常のメチル化状態に影響を及ぼすため、そのまま用いることはできない事を回答した。

最後に主査の平野教授より、**Event-free survival** を検討した意味について質問があり、申請者は、**Event** は死亡・再発のみならず化学療法に伴う二次癌などを含んでおり、長期フォローアップを要する小児において重要な指標であると回答した。次に、4 遺伝子のうち 2 個以上の組み合わせとした根拠を問われ、申請者は **ROC** 解析から予後を予測する上で最も高い **AUC** となるカットオフ値が 2 であったため採用したと回答した。次に、4 遺伝子の中のいくつかの特定な組み合わせを検討したかについて問われ、ハザード比の高い遺伝子のみの組み合わせや、ハザード比から各遺伝子に点数の重み付けを行なったモデルなど検討したが、4 遺伝子の個数で評価するモデルが最もシンプルで予測能も高かったため採用したと回答した。最後に、**Nagae** らが報告したデータに本研究を裏付けるデータが含まれていたかについて質問があり、本研究で検討した遺伝子に関しては、**Nagae** らのデータでも同様に予後不良群で高メチル化していることが確認できており、今後 **JPLT-3** の検体を通して本研究成果の **Validation** を行い、実際の臨床応用に繋がっていく必要がある事などを回答した。

この論文は、**CHIC-HS** に **DNA** メチル化解析に基づく分子学的因子を統合した臨床実現可能性の高いモデルを提唱した点において高く評価され、今後の肝芽腫における **Risk adaptive therapy** に寄与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、大学院過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。