

論文審査の要旨

報告番号	総論第 45 号	学位申請者	赤羽 俊章
審査委員	主査	上野 真一	学位
	副査	岸田 昭世	副査
	副査	古川 龍彦	副査
			博士 (医学)
			大塚 隆生
			榎田 英樹

Direct next-generation sequencing analysis using endometrial liquid-based cytology specimens for rapid cancer genomic profiling

(子宮内膜液状化細胞診検体を用いたダイレクトシーケンシングによる迅速がんゲノムプロファイリング)

本邦における保険適応の遺伝子パネル検査に提出できる検体は、ホルマリン固定パラフィン包埋検体(FPPE)のみであり、細胞診検体のゲノム検査の適否については十分に検討がおこなわれていない。学位申請者らは、広く検診で用いられる、子宮内膜細胞診の液状化細胞診検体 (Liquid-based Cytology: LBC)を使用したゲノム解析と子宮体癌のゲノム分類、統合分子病理診断の可能性について、カスタム遺伝子パネル検査を用いて解析することで検討した。2019-2021年に鹿児島大学病院にて子宮内膜生検、切除がおこなわれ、悪性と診断された23名の組織検体と細胞診検体を使用した。組織はホルマリン固定、細胞診は CytoRich Red で固定し病理診断に使用した。組織はミスマッチ修復タンパクの免疫染色をおこなった。細胞診は腫瘍細胞数と腫瘍細胞割合を目視により算定した。ゲノム解析は、FPPE, LBC, 全血からDNAを抽出し、56遺伝子 (17カ所のマイクロサテライトマーカを含む) のカスタム婦人科腫瘍診断用パネルを用いて次世代シーケンサーで解析した。解析項目は変異、コピー数解析、腫瘍遺伝子変異量(Tumor Mutation Burden : TMB)、マイクロサテライト不安定性 (MSI%)である。その結果、以下の知見を明らかにした。

1. LBC 検体のパネル検査は Turn around time 4 日で結果が得られた。
2. LBC 検体におけるパネル検査の条件として、腫瘍細胞割合 50%以上、腫瘍細胞数 10,000 以上で良好な結果が得られた。また核酸品質が高いためホルマリン固定検体と比較し、少ない DNA input 量で良好な検査結果が得られた。
3. 23 症例を解析した結果 19 症例で解析が成功したことから、子宮内膜細胞診は腫瘍細胞割合が高くパネル検査に適していることが判明した。
4. LBC 検体においても FPPE 検体と同様にゲノム変異、TMB、MSI の検出が可能であり、WHO 分子分類が可能であった。DNA mismatch repair-deficiency-type (MMR-d)は MSI-high かつ TMB-high、POLEm-type は POLE の pathogenic 変異と高い腫瘍遺伝子変異量(TMB-Ultra High)、TP53m-type は TP53 の pathogenic 変異を認め、組織と細胞診で一致したゲノム分類が可能であった。
5. 細胞診で鑑別困難であった症例においても、がん特有のゲノム変異が検出された。鑑別困難症例の 2 症例において MSI-high が検出され、免疫チェックポイント阻害薬の適応に必要な情報が得られた。
6. 細胞診検体でパネル検査をおこなうことにより、早い段階でゲノム情報が得られることから、手術検体の病理診断と並行してパネル検査をおこなう統合分子病理診断が可能であり、WHO の分子分類に対応することができると考えられた。

本研究は、細胞診 LBC 検体を用いることで、組織からの遺伝子パネル検査のような煩雑な作業を減らし、短時間でゲノム解析ができることを示し、precision medicine の発展に寄与することを示唆した。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。