

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 730 号	学位申請者	小林 裕介	
審査委員	主査	家人 里志	学位	博士 (医学)
	副査	上野 真一	副査	花谷 亮典
	副査	吉満 誠	副査	鈴木 紳介

主査および副査の5名は、令和6年1月4日、学位申請者小林裕介に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 子宮体がんの症例別予後について、各症例の予後は薬剤感受性に起因するか、切除しやすさ (早期進行期) に起因するか。(回答) 従来の子宮体がんの進行期は、主に病変の広がり重視し、切除しやすい子宮体部に限局するものが1期となり、予後も良好と考えられてきた。今回、従来の進行期に分子分類が導入されたことにより、病変の広がりに加えて、主にICIなどの薬剤感受性も考慮されることになった。従来手術進行期に分子分類を加味した新たな進行期は、より忠実に予後を反映した進行期となると思われる。

質問2) POLEmut 子宮体がんの分子標的薬の有効性はいかなるものか。(回答) MMR-d 体がんはICIが効くように、POLEmut 体がんにもICIが効果を発揮すると考えられる。

質問3) NGS (次世代シーケンサー) で用いる検体は、腫瘍のどのあたりを使用するのか、候補者の以前の筆頭執筆論文では充実部を解析部位として選択していた様だが。(回答) NGSで解析する検体は、病理医の診断の元、ホルマリン固定が良く、腫瘍含有率が最も高いと思われる部位を選択して使用している。以前の別論文では、組織学的に充実性増殖を有する子宮体がんの鑑別に言及した。HB染色のみでは鑑別に難渋する類内腫瘍 G2, G3、漿液性癌、神経内分泌癌、脱分化癌、未分化癌、癌肉腫の充実部をNGSで解析し、鑑別に有用な所見を明らかにした。

質問4) COSMIC のデータベースで解析されたものと、自施設のデータを比較しているが、COSMICでは様々な人種が混じっているのか。(回答) COSMIC のデータベースには様々な人種が混じっている。POLEに関しては、アジア人の頻度がやや多いと言われている。

質問5) POLEの中でもTMB (tumor mutation burden) の高さでICIの効きが違うデータがあるか。(回答) POLEの中でもTMBが低いものはICIの効きが悪い群が多く、逆にTMBが高いものはICIの効きが良い群が多いという論文が、Cancer Discov 2022 (<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-0521>) にて報告されている。

質問6) リンパ球の見え方でPOLEを推定できるか。(回答) リンパ球の浸潤の過多のみでPOLEmut 体がんを推定するのは難しいが、腫瘍浸潤リンパ球はPOLEmut やMMR-d 体がんで見られる特徴的な病理所見である。

質問7) TMBの計算方法は?(回答) TMBは1メガベースペア (Mbp) あたりの遺伝子変異数を表しているため、

$$[\text{遺伝子変異数 (個)} \div \text{primer amplicon size (bp)}] \times 1,000,000 = \text{TMB (個/Mbp)}$$
で計算する。

我々のKSTのprimer amplicon sizeは、194,131 bpである。

質問8) TP53の変異は免疫染色で分けられるものか。(回答) TP53の変異は免疫染色で分類可能である。腫瘍細胞がびまん性強陽性、あるいは完全欠失の場合にmutation typeと判断している。一方で、腫瘍細胞にp53陽性細胞が散在性に認められる場合は、wild typeと判断する。

質問9) 免疫染色で、抗ATM抗体は複数試したのか。(回答) 先行する前立腺がんの研究を参考に、ヒトATMの

最終試験の結果の要旨

Ser1981 領域を包含する FRAP-ATM-TRRAP ドメインに対応する合成ペプチドに対して作成した抗 ATM ウサギモノクローナル抗体 (Y170 ab32420; Abcam, Cambridge, UK) を選択して使用した。複数の免疫抗体は使用していない。

質問 10) Germ line の変異は見ようと思えば見られたのではないか。(回答) KST は腫瘍に加えて血液も解析しているため、Germ line の変異を見ようと思えば可能である。ただし、今回の研究を含む今までの KST の臨床試験では、日常の外來診療枠では遺伝カウンセリングを含めた患者への十分な説明・対応が困難であることが懸念されたため、Germ line の変異はあえて開示せず、情報としては秘匿化した。

質問 11) 提示された POLE 症例の中で TP53 変異がある場合、どう分類されるのか。(回答) 提示した POLE 症例の中で TP53 変異があるのは、症例 4 の p.R213* と、症例 6 の充実性増殖部の p.R213* であるが、分子分類としては超変異型 (ultramutated) の POLE サブタイプに分類される。

質問 12) POLE は予後が極めて良いが、これは ICI が実臨床に入る前のデータか。(回答) ICI が使える以前のデータである。

質問 13) そうすると白金製剤の効きがよいという解釈で良いか? そうであれば、ATM 変異症例は白金製剤の効きがよいと言って良いか。(回答) 白金製剤は、DNA 損傷を引き起こし、がん細胞の増殖を妨げる働きを有するため、ATM 変異がんでは白金製剤に対する感受性が高まることが報告されている。

質問 14) POLE と ATM の関与の因果関係は? (回答) POLE の上流に ATM が関連している。ATM → CHK2 → p53 → DNA 修復の流れが存在する。

質問 15) 術前に分子分類をすることは可能か。(回答) 可能である。体がんは術前に子宮内膜組織診を行い、組織型を推定することが可能であり、加えて治療の修飾が加わっていない術前のがん組織は、腫瘍含有率も DNA の品質も高く、NGS の解析に向いていると考えられる。

質問 16) 予後がかなり違うが、分子学的分類によって将来的に術式が変わる可能性はあるか。(回答) 術式が変わる可能性があり、術前に ICI が効くことが予想されれば、リンパ節転移を省略できる可能性も考えられる。

質問 17) 転移リンパ節にも変異がはいるのか。(回答) 転移リンパ節にも原発腫瘍と同じ変異を有する腫瘍細胞が転移しているものと考えられる。

質問 18) 他のがん腫でも ATM では同じようなアミノ酸変異があるか。(回答) 他のがん腫でも ATM では同じような p.R250* などのアミノ酸変異が知られている。

質問 19) HE での形態学的所見と組み合わせることで診断の精度が上がるということが示唆されたが、最終的には病理医の眼がやはり重要か。(回答) ゲノム解析が盛んに行われている現状においても、病理医による形態学的診断は非常に重要である。ゲノム解析と形態学的所見はどちらも診断には欠かせない両輪であると考えられる。

質問 20) 「浅いコピー数の変化」とはどのようなことか。「複雑な再配列」とは? (回答) shallow copy number alteration を浅いコピー数の変化と説明したが、「浅い」ではなく、「数が少ない」や「頻度の低い」といった表現が適切かと訂正する。「複雑な再配列」とは「三つ以上の染色体に及ぶ構造異常」であり、エクソームシーケンスやパネルベースのピンポイントのシーケンスでは、大規模な「挿入」や「欠失」や「構造的な変異」を特定することは困難である。

質問 21) POLE 変異はホモ接合性、ヘテロ接合性のどちらに隔たっているか。(回答) ヘテロ接合性に隔たっていた。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。