

論文内容の要旨

Microsatellite instability-high is rare events in refractory pediatric solid tumors
(難治性小児固形腫瘍においてマイクロサテライト高不安定性は稀なイベントである)
(吉田太郎, 村松秀城, 若松学, 谷口理恵子, 市川大輔, 中黒匡人, 夏目敦至, 高橋義行)
(Pediatric Hematology and Oncology 39 巻, 1 号, 令和 4 年 2 月掲載)

I. 研究目的

小児固形がんの治療は、化学療法を中心とした集学的治療の成功により、多くの症例で治癒が見込めるようになったが、未だ腫瘍の再増大・再発により不良な転帰を辿る症例が存在する。MSI-high の評価を行うことで、抗 PD-1 抗体をはじめとした免疫チェックポイント阻害剤の効果が期待できる患者集団を特定することができれば、患者予後の向上が期待される。また、MSI-high 小児がんでは、MMR 関連遺伝子の生殖細胞系列変異を有するリンチ症候群を合併している可能性が高いことが推定される。リンチ症候群の診断により、大腸がんのスクリーニングの必要性や、放射線治療を可能な限り避けるなど、より適切な治療法・患者フォローアッププログラムを策定することが可能である。

本研究は、難治性の小児固形がんにおいて MSI-High の評価を行い、その臨床的意義を明らかにすることを目的とした。

II. 研究対象ならび方法

2000 年 4 月から 2019 年 5 月までに名古屋大学医学部附属病院小児科に入院した小児固形がん患者（ランゲルハンス組織球症，良性腫瘍を除く）のうち，死亡症例 74 例を対象として，そのうち十分な病理標本を院内で得られた 40 例の薄切標本を作製し，MSI-High の評価を行った．症例の抽出について，2000 年 4 月-2019 年 5 月に名古屋大学医学部附属病院に入院した小児固形腫瘍症例のうち，死亡症例で病理標本が利用できる症例を選択した．標本の作製について，光顕試料室作製室および病理部に協力を依頼し，得られたブロック標本から薄切を行い，未染標本・HE 標本を作製して，腫瘍部位のマーキングを行った．MSI 検査の施行について，検体から DNA を抽出し，マイクロサテライト領域 BAT-26, NR-21, BAT-25, MONO-27, NR-24 を挟むプライマーを加えて Polymerase Chain Reaction (PCR) 増幅を行った．各マイクロサテライト領域の増幅産物を用いて，DNA シーケンサーにてキャピラリー電気泳動を行った．5 種のマイクロサテライト領域マーカーに正常組織が示す繰り返し回数の QMVR 幅を設定し，目視にて腫瘍組織の極大ピークが QMVR 幅以外の位置にもあれば MSI+ と識別し，MSI-High (MSI-H) を判定した．

Ⅲ. 研究結果

2000年4月から2019年5月までに名古屋大学医学部附属病院に入院した小児固形腫瘍患者334例のうち、死亡症例74例を抽出した。そのうち十分な病理標本を院内で得られた40例を今回の検討の対象とした。内訳は男児17例、女児23例で、年齢の中央値は2歳だった。診断は、神経芽腫が14例、髄芽腫が6例、横紋筋肉腫が3例、PNET3例、AT/RT3例、ユーイング肉腫2例、そのほかの腫瘍が10例だった。死亡の原因は、原病の増悪や再発による死亡が36例、治療関連死亡が2例、感染が1例だった。今回対象とした小児固形腫瘍患者334症例全体の5年全生存率77.5%だった。マイクロサテライト不安定性(MSI)解析方法は5種類のモノヌクレオチドリピートマーカ―(NR27, NR21, NR24, BAT25, およびBAT26)を使用して、マルチプレックスPCRを用いて解析を行った。各マイクロサテライト領域の増幅産物を用いて、DNAシーケンサーでキャピラリー電気泳動を行った。5種類のマイクロサテライト領域マーカ―において、正常組織が示す繰り返し回数のリファレンス幅を用いて、正常と異なる繰り返し回数にピークを認める場合に、不安定性ありと判定した。腫瘍サンプルのMSI statusは、5種類中2つ以上のマーカ―で不安定性がある場合をMSI-high, 1つのマーカ―のみで不安定性がある場合をMSI-Low, またいずれのマーカ―でも不安定性が示されない場合をMicrosatellite stable (MSS)と定義した。今回検討した40症例についてMSI statusの評価を行ったところ、検討可能だった36例においてはMSI-highは検出されず、全例がMicrosatellite stableだった。また、4例は病理検体不良のためPCR不能であり、検討不可能だった。

Ⅳ. 結 語

本研究では、再発・難治性の小児固形がんにおいて、MSI高値は稀な事象であることが示された。免疫チェックポイント阻害剤治療の適応となりうる小児患者を効率的に特定するためには、小児固形がんにおける免疫チェックポイント阻害剤への反応を予測する潜在的バイオマーカ―について更なる研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 伊藤 薫樹 (内科学講座：血液腫瘍内科分野)

副査 准教授 遠藤 幹也 (小児科学講座)

副査 准教授 小宅 達郎 (内科学講座：血液腫瘍内科分野)

本研究は希少がんである小児固形腫瘍を対象として、免疫チェックポイント阻害薬の有効性の予測マーカーの一つであるマイクロサテライト不安定性 (MSI) の有無について検討した研究である。様々な小児固形腫瘍患者 75 例の死亡症例から 40 例を抽出し、ブロック標本から HE および未染標本を作成し、顕微鏡下で腫瘍部分を同定後に腫瘍部分から DNA を抽出した。5 種のマイクロサテライト領域に対してそれぞれ PCR 増幅を行った。その後、各 PCR 産物を DNA シーケンサーにてキャピラリー電気泳動法を行い、変異の有無を評価した。結果として検討可能であった 36 例には MSI high の症例は認めなかった。以上から、評価症例は少数ではあるものの再発難治性の小児固形腫瘍では、MSI high の症例は稀な事象であることが示唆された。これまで小児固形腫瘍における MSI の検討は一部の脳腫瘍で報告されているのみで、腫瘍横断的に検討した報告は他にない。小児固形腫瘍に対する免疫チェックポイント阻害薬治療の適応を考える上で将来的にも重要な知見を示した貴重な研究である。

試験・試問の結果の要旨

本研究の背景、目的、対象と方法、結果、考察について適切かつ的確に発表を行った。小児固形腫瘍に対する免疫チェックポイント阻害薬治療の現状、対象症例数の設定、検証方法の妥当性、将来への展望、本研究の問題点などについて試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) インフルエンザ感染後に辺縁系症状を繰り返した自己免疫性脳炎・脳症 (吉田 太郎, 他 8 名と共著). 日本小児科学会雑誌 123 巻, 11 号 (Nov. 2019) : p1654-1659.
- 2) Management of preterm infants and incidence of patient ductus arteriosus (早産児の管理方法の変化と早産時動脈管開存症の発症) (土屋 繁国, 他 9 名と共著). 岩手医学雑誌 71 巻, 5 号 (Dec. 2019) : p201-212.