

審査の結果の要旨

氏名 小林 真之

本研究は、成人ランゲルハンス細胞組織球症（LCH）の非侵襲的な診断をアリアル特異的リアルタイム PCR にて、そしてその病態解明を網羅的ゲノム解析によって試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. BRAF-V600E を特異的に検出するリアルタイム PCR 反応において、野生型配列の 3' にリン酸化修飾を加えたブロッカーオリゴを反応系に加えることで野生型配列の増幅を阻害し、検出精度を著しく向上させた。その結果、患者の末梢血遊離 DNA（cfDNA）に含まれる僅かな BRAF-V600E を検出、定量化することに成功した。
2. 上記手法を用いて、BRAF-V600E 陽性の多臓器型 LCH 患者の末梢血単核球 DNA と cfDNA における陽性率を比較したところ、cfDNA は単核球 DNA の 10 倍以上の陽性率を示し、成人 LCH 患者の cfDNA は腫瘍由来 DNA を豊富に含んでいることが確認された。
3. 活動性 LCH 患者 15 名の cfDNA を対象とした解析では、6 名（40%）が BRAF-V600E 陽性であった。また、時系列での解析によって cfDNA における BRAF-V600E は患者の病態や治療反応と相関していることが確認された。
4. BRAF-V600E 陰性の 3 症例の病変組織において 4,813 遺伝子の網羅的ゲノムシーケンスを行った。東京大学医科学研究所のスーパーコンピュータ Shirokane3 と in-house パイプラインである Genomon を用いてシーケンスデータを解析したところ、3 症例に共通する変異として KMT2C が、また 1 症例で PIK3CD の変異がドライバー候補として考えられた。

以上、本論文は生検困難な部位に好発する LCH に対して、採血のみで施行可能な非侵襲的な診断法としてアリアル特異的リアルタイム PCR が有用であることを証明し、さらに本手法は治療反応や再発のモニタリングにも有用である

可能性を示した。また、BRAF-V600E 陰性症例における生検組織標本の網羅的ゲノム解析によって、KMT2C と PIK3CD のミスセンス変異が LCH のドライバーである可能性を示した。本研究は、LCH の早期診断による治療成績の向上や予後の改善、そして病態解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。