

## 論文審査の要旨(乙)

申請者所属講座 氏名	弘前大学医学部附属病院小児科 氏名 工藤 耕
指導教授氏名	照井 君典
論文審査担当者	主 査 佐藤 温 副 査 玉井 佳子 副査 村上 学
(論文題目) BRAF V600E-positive cells as molecular markers of bone marrow disease in pediatric Langerhans cell histiocytosis (小児ランゲルハンス細胞組織球症における骨髄病変としての BRAF V600E 陽性細胞の意義)	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>ランゲルハンス細胞組織球 (LCH) は、小児に多発する希少疾患で、MAPK 経路の遺伝子変異を有する単核食細胞系の悪性腫瘍である。BRAF V600E 変異は約 60% の症例に認められ、再発および治療抵抗性との相関が報告されている。本研究では、LCH における分子レベルの骨髄病変 (BMD) の臨床的意義を明らかにするために、腫瘍病変および骨髄血のペア検体を用いて後方的遺伝子解析を行った。</p> <p>1996 年から 2021 年の期間、国内 13 施設で病理診断された腫瘍組織と骨髄血を検体とした。ターゲットシーケンサー法による腫瘍 59 検体の解析では、92% で体細胞変異が検出され、56% で BRAF V600E 変異が同定された。次に、同定された体細胞変異に特異的なプライマーを設計し、骨髄血検体を用いてドロップレットデジタル PCR 法による定量的解析を行った。解析可能な 38 例の BMD 陽性率は 55%、BRAF V600E 変異陽性 25 例では 84% であり、BRAF V600E 変異陽性症例において高頻度に認められた。臨床病型での BMD 陽性率は、多臓器型リスク臓器陽性群 100%、多臓器型リスク臓器陰性群 54%、多発骨型 25%、単一臓器型 0% であった。また、低年齢症例群 (0.9 歳対 5.4 歳) で多く、治療中の増悪および再発の累積発生率が高かった (79% 対 36%)。骨髄血と末梢血単核球のペア検体で変異アレル頻度を測定した結果、骨髄血で変異量が高く、LCH における腫瘍起源は、骨髄血であることが示唆された。さらに、経時的に得られた複数時点での検体 11 例の解析においては、難治性の経過を示す症例で高い BRAF V600E 変異アレル頻度を示していた。現在の骨髄浸潤の診断基準である血球減少および CD1a の陽性率と比較すると、血球減少 32%、CD1a 免疫染色陽性 11% に対し、BMD は 84% と最も鋭敏であった。</p> <p>遺伝子変異陽性細胞を反映する BMD は、臨床型および予後、治療中の増悪や再発と有意に相関し、臨床的に重要な予後因子であることが明らかにされた。血球減少や CD1a 陽性にかわる新規予後因子として小児 LCH 研究に極めて重要であり、学位授与に値する。</p>	
公表雑誌名	Haematologica. 2022 Jul 1;107(7):1719-1725.