



Title	Monitoring gastric cancer progression with circulating tumour DNA
Author(s)	浜川, 卓也
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51909
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	浜川 卓也
論文題名 Title	Monitoring gastric cancer progression with circulating tumour DNA (血中遊離DNAの次世代シーケンシングによる癌細胞由来遊離DNAを用いた胃癌の病勢モニタリング)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 胃癌においては感度・特異度にすぐれた血中バイオマーカーが存在しないため、新たなバイオマーカーの開発が期待されている。血液中には全身の細胞から放出されたと考えられる遊離DNA断片 (cell-free DNA) が循環しており、癌患者においてはその一部に腫瘍由来のcirculating tumor DNA (ctDNA) が混在することが知られている。ctDNAは元の癌と同じ体細胞変異を有するため、新たな血中バイオマーカーとして注目されている。近年いくつかの癌においてctDNAの有用性を示唆する報告がみられるが、胃癌においては変異に着目してctDNAを検出した報告はみられない。一方ctDNAの検出には幾つかの方法が知られているがわれわれは次世代シーケンシングに着目した。本研究では進行胃癌患者血漿から次世代シーケンサーを用いたctDNA検出が可能かどうか、またctDNAが胃癌治療中の病勢モニタリングに使用可能であるかどうかを検討することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 (1) 原発巣の変異検索 2011年4月から2012年11月の間に大阪大学医学部附属病院で胃切除を行った進行胃癌患者を対象とした。切除標本の腫瘍凍結切片を用い、direct sequencingで原発巣におけるTP53の遺伝子変異を調べた。原発巣42例の解析を行い10例(24%)でTP53変異を同定した。 (2) 血漿DNAからの変異検出 原発巣で変異の同定された患者においては、術前血漿の解析を行った。次世代シーケンサーIon PGMを用いて、各腫瘍で同定した変異点を含む領域を対象とし術前cell-free DNAのdeep sequencingを行い、得られたシーケンスデータを解析しcell-free DNAのうち腫瘍と同一の変異を有する断片の割合をctDNA (%) として算出した。術前血液の利用可能であった6例で血漿の解析を行ったところ、術前ctDNA測定値は0.00 - 11.5%であり、StageIIICとIVの3例でctDNAを検出したと考えられた。次世代シーケンサーによる微量変異の検出にあたってはシーケンスエラーが問題となる。このため、これら3例の変異に関して正常WBCゲノム24回のdeep sequencingから変異点に固有のシーケンスエラーレートを求め、ctDNAの検出閾値を統計学的に決定し、検出が陽性であることを確認した。 (3) ctDNA定量値による臨床経過の追跡 術前血漿からctDNAが検出された症例に関しては術後経過中のctDNAを測定し臨床経過との対比を行った。この際、複数の癌関連遺伝子を一度に検索可能な次世代シーケンサー用のパネルを用いた原発巣の変異検索を追加し、TP53の他にPIK3CA, FBXW7といった体細胞変異を同定可能であったため、各症例につき2種類の遺伝子で経過を追跡した。R0, R1胃切除を行った2例では切除後にctDNAが閾値以下に低下し、その後肝再発に伴い再上昇していた。うち1例はTrastuzumabを含む薬物治療が行われたが病勢増悪となり、ctDNAは更に上昇を示した。別の1例は同時性肝転移を有する症例であり原発巣の姑息切除を行ったが、術後に肝転移が急激に増大し、それに伴ってctDNAは77.8%まで上昇した。TP53とPIK3CA, FBXW7でみたctDNA測定値は、腫瘍量、治療効果、血清腫瘍抗原の推移とよく一致した推移を示した。 〔総 括(Conclusion)〕 進行胃癌患者において、ctDNA測定値の推移は臨床経過とよく合致していた。ctDNAは胃癌患者において病勢モニタリングに有用なバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 浜川 卓也			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	土岐 祐一郎
	副 査	大阪大学教授	野 口 寛 二 郎
	副 査	大阪大学教授	古 井 寛 一

論文審査の結果の要旨

本論文は、胃癌患者において、血中遊離DNA断片のうち癌細胞と同一の体細胞変異を有するごく微量な断片が占める割合の定量値が、臨床経過（外科的切除、術後再発、抗癌剤治療中の効果）とよく合致することを示したものである。胃癌患者の血中遊離DNA断片に関する研究はいくつかみられるが、本研究は癌に特異的といえる体細胞変異を高感度に検出している点が他の先行研究との差であり、この点で新規性が評価できる。また検出方法として次世代シーケンサーによる血中遊離DNAのシーケンシングを用いた点も胃癌領域においては初めての報告である。今後、癌細胞由来遊離DNAの臨床応用を想定した場合にも、特定の変異点のみでなくゲノム全長を解析できる点で発展性が期待できる手法といえる。以上より、本論文は消化器外科学の発展に寄与する研究論文と考えられ、学位に値する論文として認める。