The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Detecting secondary C-KIT mutations in the peripheral blood of patients with imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor
Author(s)	和田, 範子
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55785
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	和田　範子
論文題名 Title	Detecting secondary *C-KIT* mutations in the peripheral blood of patients with imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor (イマチニブ耐性GIST患者の末梢血における*C-KIT*二次変異の検出)

論文内容の要旨(1940/2000字)

〔目　的〕Gastrointestinal stromal tumor (GIST)は主に*C-KIT*および*platelet-derived growth factor receptor α* (*PDGFRA*)の変異により引き起こされる疾患である。初発GISTの約50-60%は*C-KIT*のexon11に変異を有し、選択的チロシンキナーゼ阻害剤であるイマチニブが奏効するとされている。イマチニブは進行GISTに対する標準治療薬剤であり、GIST患者の予後の改善に大きく寄与しているが、約半数の症例は*C-KIT*に二次変異を来すことで耐性を獲得することが知られている。現在、イマチニブ耐性GISTの治療としてはスニチニブとレゴラフェニブの2つのマルチチロシンキナーゼ阻害剤が使用可能であるが、それらの効果は二次変異の部位によって異なるとされている。すなわち、*C-KIT*のexon13、14の変異に対してはスニチニブが、exon16、17、18の変異に対してはレゴラフェニブがより効果的とされており、二次変異の部位を知ることは薬剤選択において有用である。しかしながら耐性病変は体腔内深くに存在することも多く、腫瘍サンプルを得ることは困難なことが多い。近年、担癌患者の末梢血中に浮遊しているDNA (cfDNA) の中に腫瘍由来のDNA断片 (ctDNA) が含まれていることが分かってきた。このctDNAは腫瘍と同じ変異を持つことから、腫瘍から組織を採取することなく採血だけで腫瘍の持つ遺伝子変異を知ることができる手法として注目されており、これまでいくつかの悪性疾患でctDNA検出の有用性を示唆する報告がなされている。今回我々はイマチニブ耐性GISTの持つ変異を、ctDNAとして検出できるかどうか、またcfDNAにおけるctDNAの存在比率が病勢と相関するかどうかを検討した。

〔方法〕対象は2011年11月から2014年1月までに、イマチニブ耐性GISTに対して切除術を施行した4例。4例はいずれも、初発病変切除後の再発病変に対しイマチニブを投与したものの耐性を生じたため、耐性病変に対して切除術を施行している。初発病変および耐性病変からDNAを抽出し、腫瘍の持つ*C-KIT*の変異を、サンガー法を用いたダイレクトシーケンスで検索した。さらに、耐性病変の治療前後で末梢血7mlを採取してcfDNAを抽出し、qRT-PCR法を用いてcfDNAの濃度を測定した。耐性病変で認めた変異部位を挟むようなプライマーを作成し、PCR法を用いてcfDNAにおける同部位を増幅した後、耐性病変と同じ変異をctDNAとして検出できるかどうか、次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスで検索した。

〔成績〕初発病変の一次変異は4例ともに、*C-KIT* exon11 550-559コドン内の6-27塩基の欠損であり、イマチニブ耐性病変の二次変異は、4例中3例は*C-KIT* exon13の1塩基置換(V654A)、1例は*C-KIT* exon18の1塩基置換(A829P)であった。全ての血液サンプルからcfDNAを抽出することができ (各サンプルにおける濃度は0.64-2.03ng/μL) 、耐性病変の治療前に血漿を採取できた3例中2例では、耐性病変の治療後におけるcfDNA濃度の変化はわずかであった。血液サンプルにおける二次変異について、cfDNAにおけるctDNAの存在比率を算出したところ、4例の治療前値および治療後値はそれぞれ、[6.039%, 0.010%]、[0.053%, 0.013%]、[0.010%, 0.041%]、[9.385%, 0.199%]であり、4例中3例において病勢との相関を認めていた。ctDNA割合の閾値を0.02%と設定した場合には3例中2例において治療後に閾値以下への低下を認めた。初発病変の切除前後にも血液サンプルを採取できた症例において、病勢とcfDNA濃度およびctDNA割合との関係を経時的に検討したところ、cfDNAの濃度は緩徐に増加傾向にあり病勢との相関を認めなかった。一方、ctDNA割合は耐性病変出現前には閾値以下であったものが耐性病変出現後に閾値以上にまで増加した。さらに、耐性病変の治療としてスニチニブを投与した後には閾値以下にまで減少しており、病勢との相関を認めた。

〔総　括〕イマチニブ耐性GISTを有する患者において、耐性病変の持つ二次変異と同じ変異を末梢血から検出することができた。cfDNA濃度は病勢との相関が乏しかったものの、ctDNAの割合は病勢とよく相関しており、イマチニブ耐性GISTに対するマルチチロシンキナーゼ阻害剤を用いた治療の効果予測に有用である可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）和田　範子

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 道三郎
	副　査	大阪大学教授	木村 正

論文審査の結果の要旨

本論文は、イマチニブ耐性GIST(Gastrointestinal stromal tumor)の持つ二次変異を、血漿中に存在するcfDNA(cell-free DNA)において、ctDNAとして検出できるかどうか、またcfDNAにおけるctDNAの存在比率が病勢と相関するかどうかを検討した研究である。

次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスを行うことで、4例の患者全ての血漿においてctDNAを検出することができた。また、cfDNAにおけるctDNAの存在比率は、4例中3例において耐性病変の治療前後で低下を認め、病勢との相関を認めた。

イマチニブ耐性GISTについて、腫瘍と同じ変異を血漿中のDNAにおいて認めるかどうかを検索した報告はこれまでなく、新規性が認められる。また、今回の方法が薬剤選択において有用である可能性があり、価値があると考えられることから、学位に値するものと認める。