



Title	Detection of Ultra-Rare ESR1 Mutations in Primary Breast Cancer Using LNA-Clamp ddPCR
Author(s)	橋本, 陽子
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95971
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	橋本 陽子
論文題名 Title	Detection of Ultra-Rare <i>ESR1</i> Mutations in Primary Breast Cancer Using LNA-Clamp ddPCR (LNA-Clamp ddPCR法を用いた乳癌原発巣における微量な <i>ESR1</i> 変異の検出)
<p>論文内容の要旨</p> <p>【目的(Purpose)】 <i>ESR1</i>遺伝子変異は、原発巣では非常に稀であることから、これまでアロマターゼ阻害剤治療によってde novoに発生すると考えられてきた。一方で、digital-PCR (dPCR) などを用いた先行研究では、低アレル頻度の<i>ESR1</i>変異の存在を示唆する報告もなされているが、大規模な研究報告はなされていない。そこで本研究では、検出感度向上のために従来のdPCRにPCR clamping法を導入し、従来見逃されていた可能性のある乳癌原発巣中の微量な<i>ESR1</i>変異の検出を試みた。</p> <p>【方法ならびに成績(Methods/Results)】 2009年-2018年までに当院で治療を受けた212人のER陽性原発性乳癌患者を対象とした。高感度検出のために、locked nucleic acid (LNA) -clamp droplet digital PCR (ddPCR) と呼ばれる高感度変異検出法を開発した。さらに感度向上のために、ホルマリン固定パラフィン包埋組織(FFPE)ではなく新鮮凍結組織(FF)の使用および mRNA (cDNA) を用いて解析を行うこととした。mRNA (cDNA) を使用した根拠としては、乳癌細胞株での実験の結果から、ER陽性細胞ではDNAよりもmRNAの方が、<i>ESR1</i>遺伝子発現が多いことが確認されたからである。<i>ESR1</i>遺伝子変異の中でも頻度の高い p.Y537S (c.1610A>C) および p.D538G (c.1613A>G) の2変異に対して、それぞれLNAを設計し、LNA-clamp ddPCR法の検証を行った。その結果、変異検出感度は約0.003%であった。この方法を用いて、原発性乳癌212例の新鮮凍結(FF)組織における<i>ESR1</i>変異をp.Y537S (c.1610A>C) および p.D538G (c.1613A>G) の2変異に対して解析を行った。27例(12.7%)の患者で28の<i>ESR1</i>変異が見つかった。Y537Sの変異を16例(7.5%)、D538Gの変異を12例(5.7%)、double mutation症例を1例認めた。Variant allele frequency (VAF) $\geq 0.1\%$の変異を2例、VAF $< 0.1\%$の変異を26例認めた。</p> <p>【総括(Conclusion)】 LNA-clamp ddPCR法を用いた高感度解析により、乳癌原発巣におけるVAF $< 0.1\%$の微小変異の存在を証明した。LNA-clamp ddPCR法により、従来法では検出できなかった<i>ESR1</i>微小変異を高感度に検出できる可能性がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 橋本 陽子

	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	島津 研三
	副 査	大阪大学教授	新谷 康
	副 査	大阪大学教授	日比野 浩

論文審査の結果の要旨

乳癌における*ESR1*変異は、アロマターゼ阻害剤に対する耐性メカニズムの一つであり、転移性乳癌では一般的であるが、原発性乳癌では稀であるとされてきた。しかし、これらのデータは主にホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いて解析されているため、微小変異は見落とされている可能性がある。本研究では、locked nucleic acid (LNA)-clamp droplet digital PCR (ddPCR) と呼ばれる高感度変異検出法を開発し、変異検出感度は0.003 %であった。この方法を用いて、原発性乳癌212例の新鮮凍結 (FF) 組織における*ESR1*変異を解析した。27例 (12.7%) の患者で28の*ESR1*変異が見つかった。Variant allele frequency (VAF) $\geq 0.1\%$ の変異を2例、VAF $< 0.1\%$ の変異を26例認めた。このLNA-clamp ddPCRを用いることにより、原発性乳癌におけるVAF $< 0.1\%$ の微小変異の存在を証明した。本研究は学位に値するものと認める。