

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Analysis of colorectal cancer-related mutations by liquid biopsy: utility of circulating cell-free DNA and circulating tumor cells

リキッドバイオプシーを用いた大腸癌関連遺伝子変異の検討：血中循環DNAと血中循環腫瘍細胞の有用性

日本医科大学大学院医学研究科 消化器外科学分野
大学院生 武田 幸樹
Cancer Science 掲載予定

癌に対する分子標的治療を効果的に行うには癌の遺伝子情報を正確に把握することが重要である。繰り返し施行できるリキッドバイオプシー：血中循環DNA(circulating cell free DNA: ccfDNA)、血中循環腫瘍細胞 (circulating tumor cell : CTC)は癌の多様性・不均一性の解析に有用であると期待されるが、大腸癌において腫瘍組織、ccfDNA、CTCの変異情報を直接比較した報告はない。そこで大腸癌患者の腫瘍組織、血漿、CTCよりDNAを抽出 (tumor tissue DNA、ccfDNA、ctcDNA) し、次世代シーケンサー(Next Generation Sequencing: NGS)とデジタルPCR(dPCR)を用いて変異解析を行った。

以下の2群を対象とした。1) 未治療の大腸癌患者 34例。2) 抗癌剤治療中または治療後で、原発巣にRAS遺伝子変異を有するstage IV大腸癌患者 22例。

手術、または内視鏡検査にて腫瘍組織を採取し、全血 10ml を採取し、CTC回収装置(LiquidBiopsy[®] platform)を用いて血漿、CTCを回収。腫瘍組織、血漿、CTCのそれぞれよりDNAを抽出 (tumor tissue DNA、ccfDNA、ctcDNA) した後にNGSを施行。3検体の癌関連遺伝子変異を比較検討した。

1) 対象は34症例(stage II: n=4, stage III: n=7, stage IV: n=23)。Tumor tissue DNAからは計53箇所の変異、ccfDNAからは計47箇所の変異、ctcDNAからは計16箇所の変異が検出された。Tumor tissue DNA、ccfDNA、ctcDNAの全てで共通に検出された変異は10箇所であった。Tumor tissue DNAから検出された53箇所の変異のうち、ccfDNAからは27箇所(50.9%)、ctcDNAからは11箇所(20.8%)、同じ変異が検出できた。Tumor tissue DNAでは検出されなかった変異がccfDNAから20箇所、ctcDNAから5箇所検出された。34例中、12症例(35.3%)で腫瘍組織では検出されない遺伝子変異が、リキッドバイオプシーで検出された：ccfDNAから9症例(26.5%)、ctcDNAから3症例(8.8%)。

2) 22 症例中、ccfDNA から 14 症例(63.6%)、ctcDNA から 8 症例(36.4%)で RAS 変異が同定できた。ctcDNA から RAS 変異が同定できた 8 症例全てで ccfDNA から RAS 変異が同定でき、変異率は ctcDNA に比べ ccfDNA で高かった。ccfDNA においては、CEA 高値の症例で有意差を持って RAS 変異の同定率が高かった(P=0.046)。ctcDNA においては、末期癌症例、CEA 高値の症例、CTC が多く採取できた症例、採取された CTC 数の WBC 数に対する比率が高かった症例で有意差を持って RAS 変異の同定率が高かった(P=0.03, P=0.008, P=0.005, P=0.01)。

これらの結果より、腫瘍組織からは検出されない変異でもリキッドバイオプシーからは検出でき、リキッドバイオプシーが癌の多様性・不均一性の解析に有用であることが証明された。また、ccfDNA と ctcDNA を同時に解析することでその精度が向上することも示された。

二次審査においては、CTC の血中における形態に関する質問、転移箇所による CTC 回収率の差に関する質問等があったが、何れの質問に対しても簡潔明瞭的確に回答された。今後は CTC の回収率の更なる向上を目指して研究に取り組みとの事であった。

本研究は、腫瘍組織からは検出されない変異でもリキッドバイオプシーからは検出でき、リキッドバイオプシーが癌の多様性・不均一性の解析に有用であることを証明した重要な研究であることが確認された。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。