

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	羽田野 直人
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Prognostic value of circulating tumour DNA in patients undergoing curative resection for pancreatic cancer (膵癌術後患者における circulating tumour DNA 検出の意義)			
論文審査担当者 主査 教授 田妻 進 印 審査委員 教授 大段 秀樹 審査委員 准教授 大上 直秀			
〔論文審査の結果の要旨〕 【背景】膵癌は、浸潤・転移傾向が強く、ヒト固形癌の中でも極めて予後不良な難治癌である。また、根治切除後の再発率も極めて高く、切除例の5年生存率は10%程度にすぎない。膵癌の予後を改善するためには、できるだけ早期に診断し的確な治療を行うことが重要であるが、有効なスクリーニング法が確立されていないことが大きな問題である。現在のところ、膵癌の診断用マーカーとして、癌胎児性抗原 Carcinoembryonic antigen; CEA や糖鎖抗原 carbohydrate antigen 19-9; CA19-9 等が知られているが、これらはいずれも膵癌に特異的なマーカーではなく偽陽性が多いとされる。近年、腫瘍細胞から放出される血液中の癌遺伝子断片 (circulating tumor DNA; 以下 ctDNA) を検出することが、種々の固形癌の新しい解析の対象として注目されている。膵癌においては初期段階から高率に KRAS の点突然変異が起きていると考えられており、癌が進行していく過程で循環血液中に放出される腫瘍細胞から KRAS 遺伝子変異を ctDNA として検出し、定量化できれば、有用な膵癌診断のバイオマーカーとなる可能性がある。 【対象】本研究では広島大学病院で膵癌切除を施行した浸潤性膵管癌 105 切除例を対象とした。術前採取した患者血漿中に KRAS 遺伝子変異を検出した症例を ctDNA 陽性群とし、既存の腫瘍マーカーを含む各種臨床病理学的因子と長期予後との関連性、また Resectability (NCCN ガイドライン 2015) からみた ctDNA 測定の意義を検討した。 【方法】本研究は既存のリアルタイム PCR の限界を超える能力を有する第3世代の PCR と呼ばれる Droplet Digital PCR (以下 ddPCR) システムを用いて、膵癌患者における ctDNA の検出、定量化を行い、膵癌診断、治療におけるバイオマーカーと			

しての有用性を検討した。ddPCR システムは、検量線の必要性を排除することにより、ターゲット DNA 定量の革新的なアプローチが可能である。この ddPCR システムの登場により、以前には不可能とされた極低濃度のサンプルにおけるターゲット DNA の検出や、絶対的な定量が可能となった。膵癌患者より採取した末梢血約 8mL を EDTA 入り血液スピッツに回収し、遠心分離にて血漿のみを抽出し QIAGEN QIAamp® DNA Blood Kit を用いて ctDNA を抽出し、Bio RAD QX100 Droplet Digital PCR システムを用いて膵癌患者血漿中の KRAS 遺伝子変異を検出、定量した。

【結果】 対象患者 105 例中 33 例 (31%) から ctDNA が検出された。ctDNA 陽性群の全生存期間 (OS) 中央値は陰性群と比し有意に予後不良であった (13.6M vs. 27.7M, $P < 0.0001$)。OS 予後因子解析では単変量解析において術前血清 CA19-9 高値、リンパ節転移陽性、臨床病期、ctDNA 陽性の 4 因子が抽出され、多変量解析ではリンパ節転移陽性 [HR = 2.2, 95%CI: 1.1- 4.2, $P = 0.02$]、臨床病期 [HR = 2.0, 95% CI: 1.1- 3.5, $P = 0.02$]、ctDNA 陽性 [HR = 3.2, 95% CI: 1.8- 5.4, $P < 0.001$] の 3 因子が独立した予後不良因子であった。ctDNA 陽性例は術前の画像診断における Resectable 症例 ($n = 52$) のみで行ったサブグループ解析においても有意な予後不良因子であった ($P = 0.001$)。

【結語】 本研究により ctDNA の予後予測バイオマーカーとしての有用性が示唆された。また ctDNA 陽性例は画像診断上の Resectable 症例においても、画像診断では検出できない微小転移を反映している可能性が示唆され、術前判断可能となるバイオマーカーとして有用な指標になる可能性があることを明らかとした。

よって審査委員会委員全員は、本論文が羽田野直人氏に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。