

## 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	山内 理海
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Serial profiling of circulating tumor DNA for optimization of anti-VEGF chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients (抗 VEGF 抗体薬を併用した大腸癌化学療法における循環腫瘍 DNA の連続的な分析)			
論文審査担当者			
主査教授	杉山 一彦	印	
審査委員 教授	大毛 宏喜		
審査委員 准教授	大上 直秀		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>最近がんの遺伝子変異情報を低侵襲かつ反復的に得るため，末梢血などの体液から腫瘍由来の DNA や miRNA を採取し，解析する方法（リキッドバイオプシー）の応用研究が活発に行われている。大腸がんの化学療法においては，標準治療の一つである抗 EGFR 抗体治療の耐性獲得期に，血中の循環腫瘍 DNA (circulating tumor DNA; ctDNA) から抗がん剤耐性のバイオマーカーである <i>RAS</i> 変異を検出する研究が行われている。一方，血管新生阻害剤（ベバシズマブ）を含む大腸がん化学療法は，一次治療のもう一つの柱として広く受け入れられているものの，治療効果を選別するバイオマーカーがないこと，治療前後の遺伝子変異の変化に関する情報が不足していることなどが治療戦略の最適化の妨げとなっている。</p> <p>本研究はベバシズマブを含む大腸がん化学療法を受ける患者において，末梢血液中から検出される ctDNA の内容と動態を追跡し，バイオマーカーとしての意義を検証することを目的として研究を行った。</p> <p>ベバシズマブ，5-FU，オキサリプラチンを含む標準1次化学療法を6か月以上継続した切除不能大腸がん21症例において，治療前，奏効期，耐性獲得期の3ポイントから合計61検体の血漿を前向きに採取・保存した。奏効については，CTで最も良好な腫瘍縮小が得られた時点と定義した。抽出したDNAから癌関連90遺伝子を搭載した癌パネルにてライブラリーを作成し，次世代シーケンサーにて deep sequence を行い，ctDNA を同定した（読取深度中央値1500）。18例では腫瘍組織由来のDNAも同時にシーケンスし，検出した変異が腫瘍由来かどうか確認した。</p> <p>全症例において，1-6個の変異をコードする ctDNA を確認した。治療前の変異アレル頻度（Mutant allele frequency; MAF）は1-89%と広範囲に分布していた。MAFの中央値は治療前13.2%，奏効期1.85%，耐性期9.17%と変化し，治療効果による有意な減少と耐性獲得による有</p>			

意な増加が観察された ( $p < 0.001$ )。RECIST に準拠し、CT の測定可能病変から計算した腫瘍量と MAF との間には弱い相関が認められたが ( $R = 0.57$ )、CEA および CA19-9 と MAF との間には全く相関が認められなかった ( $R = 0.0082, 0.0036$ )。奏効期における MAF と予後との関連について検討したところ、2%未満まで MAF が低下した群では 2%以上であった群に比べて有意に予後良好であり (16.6 vs. 32.5 月,  $p < 0.001$ )、多変量解析を加えても有意な予測因子であったことから ( $p = 0.005$ , ハザード比 22)、耐性期における MAF の値はベバシズマブを含む大腸がん化学療法の有用なバイオマーカーと考えられた。また 2 例においては、耐性獲得期の血漿中に MAF 1%前後の新規変異 (*CREBBP*, *FBXW7*) をコードする ctDNA の出現を認めた。これらはいずれもがん抑制遺伝子であり、その変異による機能減弱は抗 VEGF 治療で惹起された腫瘍の低酸素状態への抵抗性を反映していると考えられた。すなわち、治療後期の新規 ctDNA の出現は、がん転移の多様なクローン集団の中で血管新生阻害治療に対する耐性クローンが増加していることが示唆された。

以上の結果から、本論文は大腸癌に対するベバシズマブを含む化学療法の奏効により ctDNA は減少し、その程度は生存期間と関連していること、耐性期の新規 ctDNA 出現は血管新生阻害剤に対する耐性獲得の機序解明の一助となることを示し、がん化学療法中の ctDNA に関する知見の今後の集積がプレジジョンメディシンの発展に寄与することを明らかにした点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	山内 理海
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Serial profiling of circulating tumor DNA for optimization of anti-VEGF chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients (抗 VEGF 抗体薬を併用した大腸癌化学療法における循環腫瘍 DNA の連続的な分析)			
最終試験担当者			
主査教授	杉山 一彦	印	
審査委員 教授	大毛 宏喜		
審査委員 准教授	大上 直秀		
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定合格			
上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年2月1日の第73回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年1月30日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。			
1 CEA と異なり MAF は腫瘍のどのようなことを表現しているか			
2 再治療が有効であった場合の MAF の変動			
3 治療抵抗性に関連する新規遺伝子変異の検出			
4 腫瘍 DNA の変異と ctDNA で検出される変異との関係			
5 MAF の予後マーカーとしての有用性			
6 ctDNA を利用した研究の今後の展開			
これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。			