

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	嶋 根 学
論文審査担当者 主 査 外科学 北 川 雄 光 産婦人科学 山 上 亘 病理学 関 根 茂 樹 内科学 金 井 隆 典 学力確認担当者： 審査委員長：山上 亘 試問日：2025年 1月16日				
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名：Molecular diagnosis for detecting <i>KRAS</i> mutation in peritoneal washing fluid of pancreatic ductal adenocarcinoma (膵癌症例の腹腔内洗浄液に対する <i>KRAS</i> 遺伝子変異解析による分子生物学的診断の有用性に関する研究)				
膵癌において腹腔内洗浄細胞診（CY）陽性は予後不良因子であるが、その検出感度は低い。本研究は、術中腹腔洗浄液中の浮遊腫瘍細胞由来DNAを高感度に検出する分子生物学的診断手法としてPNA-directed PCR clamping法の有用性を検討した。本手法はCYよりも高感度であり、陽性例では術後の腹膜播種再発を予測するバイオマーカーとして有用である可能性を示した。 審査では、本研究において本手法の結果として PNAを用いたPCR（PNA+）のCt値のみを指標としている点が指摘された。PNAを用いないPCR（PNA-）も測定されたかについて問われ、各PCR施行時に<i>KRAS</i>変異型細胞株、<i>KRAS</i>野生型細胞株、ブランク、さらにPNA+とPNA-を同時に検討したと回答した。本手法では、PNA+とPNA-でのCt値差を指標とする場合もあるが、本研究ではPNA+のCt値のみを指標とした妥当性について議論がなされた。先行研究（Nakano Y et al. <i>Br J Cancer</i> 2018）でもPNA+のCt値のみを指標としていたこと、さらに本研究において細胞株やブランク、PNA-のCt値にばらつきが少なかったことから、PNA+のCt値のみを指標とすることは許容されると判断された。 また、本研究においてCt値のCutoffを、浮遊腫瘍細胞由来DNAのシーケンス解析で検出された<i>KRAS</i>変異の有無に基づいて決定することの妥当性について問われた。腹膜播種再発に基づくCutoff値の設定も検討したが、観察期間が不十分であったため、最終的に<i>KRAS</i>変異を基準としたと回答した。 さらに、CY、腹膜播種、および分子生物学的診断の結果が不一致であった症例について考察が求められた。CY陽性または腹膜播種を認めるが、分子生物学的診断が陰性であった症例では、腹腔洗浄液の質の不良や<i>KRAS</i>野生型であった可能性が考えられる。一方で、分子生物学的診断が陽性であったがCYが陰性であった症例については、迅速細胞診の精度の影響が考えられると回答した。 また、分子生物学的診断が既存のCYの代替検査法になり得るかについても問われた。膵癌例の7-8%には<i>KRAS</i>野生型が存在するために、分子生物学的診断陽性例およびCY陽性例を併せて分類すべきであると回答した。さらに、本手法が術中迅速検査に応用可能かについても問われた。本手法では解析完了までに約6時間を要するため、術中迅速診断としての応用は困難であるが、審査腹腔鏡では有用である可能性があるとして回答した。 以上、本研究は分子生物学的診断のCutoff値の設定に関して観察期間の延長が今後の課題として残るものの、膵癌の術中腹腔洗浄液を対象としたリキッドバイオプシーの有用性を明らかにした臨床的に意義のある研究であると評価された。				