

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏 名	中 野 容
論文審査担当者 主 査 外科学 北 川 雄 光				
臨床検査医学 村 田 満 内科学 金 井 隆 典				
先端医科学 佐 谷 秀 行				
学力確認担当者：岡野 栄之 審査委員長：村田 満				
試問日：平成30年 7月 6日				
(論 文 審 査 の 要 旨)				
<p>論文題名：KRAS mutations in cell-free DNA from preoperative and postoperative sera as a pancreatic cancer marker: a retrospective study (術前術後血清から採取したcell-free DNA 中のKRAS遺伝子変異による浸潤性膵管癌の予後予測因子の検討)</p> <p>本研究では、膵癌患者の血清から抽出されたcell free DNAのKRAS遺伝子変異が、膵癌の治療効果判定や予後予測因子のバイオマーカーとなるか否かについて検討がなされた。術前のみならず術後の血清にも着目し、術後の血清より変異が検出されること、特に術前の血清より変異を認めず、術後の血清より変異を認めることが膵癌の予後不良因子となることが示された。また、術後の血清より変異が検出されない症例の予後は良好である傾向が示され、手術を含む治療効果判定に有効であることが示された。</p> <p>審査では、まず検査方法であるPNA clamp法のPCRにおけるCt値35で変異検出のカットオフ値を設定しているが、DNA濃度にカットオフ値は依存するのではないかと質問された。今回の検討では、使用するDNA量を2ngと設定し、まず変異型と野生型の細胞株をそれぞれ2種類用いて検討したところ、Ct値35未満では野生型の細胞株が検出されないことを確認し、次に健常人の血清を用いてもCt値35未満で検出されないことからCt値35をカットオフ値に設定したと回答された。ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)と血清の変異のパターンについて、FFPEでは野生型であるが、血清で変異型であった症例の解釈について質問された。対象症例の中には術前化学放射線療法を施行した症例(3/7 43%)が存在し、その影響の可能性も一つであると回答された。また、術前の血清より変異を認めず術後の血清から変異が検出された症例に関しては、急速な潜在的腫瘍の進展、遺残腫瘍や潜在的遠隔転移からのcell free DNAの放出、手術を含めた周術期の腫瘍拡散などが考えられると回答された。Liquid Biopsyにおけるcontrolの設定とPCRの感度について質問された。今回の検討では健常人の血清を用いたが、健常人の血清を濃縮した検討は行っておらず、細胞株を用いた感度に関する検討では変異型：野生型=1:100という検出感度であり、白血病における微小残存病変検出と比べると低いと回答された。術後に変異が陰性化された症例の予後について、観察期間は短いものの予後は良好であり、治療効果が反映されているのではないかと回答された。最後に本研究の臨床応用について質問された。術後のKRAS遺伝子変異を調べることで、変異が検出された症例に対して、再発リスクが高いことを考慮し、補助療法の期間の延長やより強力な抗腫瘍剤への変更、または画像診断の期間の短縮などの利活用が期待できると回答された。</p> <p>以上のように、本研究には検討すべき課題は残すものの、膵癌患者の術前術後の血清中のcell free DNAのKRAS遺伝子変異は、治療効果判定、予後予測因子のバイオマーカーとなることを明らかにした点において、非常に有意義な研究であると評価された。</p>				