

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	與 谷 卓 也
論文審査担当者 主 査 病理学 金 井 弥 栄 分子生物学 塩 見 春 彦 臨床検査医学 村 田 満 産婦人科学 青 木 大 輔 学力確認担当者：岡野 栄之 審査委員長：塩見 春彦 試問日：2019年10月18日				
(論 文 審 査 の 要 旨) 論文題名：Novel method for DNA methylation analysis using high-performance liquid chromatography and its clinical application (高速液体クロマトグラフィーを基盤とする新規DNAメチル化解析技術の開発とその臨床応用) 本研究では、診療現場へのDNAメチル化診断導入に適した新たな解析技術を開発し、その臨床実装の可能性を示すことを目的とした。新たな解析技術として、高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography : HPLC) に着目し、メチル化・非メチル化DNAを分離できる、2種類のカチオン性基を3次的に配した疎水性粒子を充填した新規アニオン交換カラムを開発した。合成DNAを用いたモデル実験ならびに淡明細胞型腎細胞がん (clear cell renal cell carcinoma : ccRCC) 組織検体の解析で、優れた定量性・再現性を証明した。さらに、クロマトグラム的一次微分解析に基づいてccRCC症例を層別化し、迅速・簡便・正確に予後予測を行えることを示した。 審査では、本開発法が実際の臨床検査に適用される際の手順と結果取得に要する時間、そして、その強みについて問われた。これに対して、組織検体から抽出したDNAをバイサルファイト変換し、がん種毎に設定されたマーカーCpG部位に対してPCR増幅し、その産物をHPLCで解析する流れで検査を行い、二日後には結果報告が可能である旨が回答された。また、本開発法の強みとして、PCR工程後は既存法に比して極めて迅速・簡便に解析できることと、マルチプレックスな解析も可能であることが説明された。次に、本開発法によって予後不良と診断されたccRCC患者に対する治療について問われた。これに対しては、先行研究で実施されたゲノム・エピゲノム・トランスクリプトーム・プロテオームの4層統合解析において、マーカーCpG部位のDNAメチル化亢進を伴うccRCCの予後不良群に、スピンドルチェックポイントに寄与する分子経路の異常が集積していたことを引用し、本開発法をコンパニオン診断として用い、スピンドルチェックポイントの主要分子であるオーロラキナーゼの阻害剤による術後アジュバント療法等を行うことが考えられると回答された。最後に、本開発法の将来的な発展性について問われた。これに対しては、本開発法の優れた特徴の一つが、細胞系列に多様性 (heterogeneity) を有する臨床検体において、特別な前処理等を行うことなく、病変細胞に由来するピークと混入した非病変細胞のピークとを分離して解析できることであり、胃がんや膵がん等の間質細胞を多く含むがん種であっても、本研究で対象としたccRCC検体同様に解析可能であると回答された。さらに、血中循環腫瘍細胞や白血病の微小残存病変を対象とするリキッドバイオプシー等への適用を目指して、検出感度向上に向けた研究を進めていることが説明された。 以上より、本研究には検討すべき課題を残すものの、HPLCを基盤とするDNAメチル化解析法を開発し、実用的なccRCCの予後診断法として展開できる可能性を初めて示した点において、有意義な研究であると評価された。				