

審査の結果の要旨

氏名 後藤 健吾

本論文は、婦人科癌患者の臨床検体を用いて血中に存在する微量 DNA の分子性状を明らかにすると共に、血中遊離 DNA の診断応用に関する基礎的な検討を行った論文である。

第 1 章は序論であり、本研究の動機ならびに背景を述べている。がん患者の血液中には腫瘍細胞由来の DNA が含まれている場合があり、この血中 DNA を対象とした新たながん診断技術への関心が近年高まりをみせている。がん組織を採取して行う従来の検査法と比較して患者への侵襲性が低いことや、全身に転移したがんの状態を把握できる可能性があることなど利点が多く、再発の監視や抗がん剤の効果判定など、多方面にわたる臨床応用が期待されているが、一方でがん細胞由来の DNA がどのように血中に流出し存在しているかについては未だ不明な点が多い。本論文ではこのような現状を踏まえ、大量並列シーケンズ技術の活用による婦人科癌患者の血中遊離 DNA の性状の解明と、血中検出の実践という意義深い研究課題を設定している。

第 2 章では、卵巣癌患者の血中遊離 DNA について、高深度の全ゲノムシーケンズ解析を実施することにより、その性状分析を行っている。血中遊離 DNA の大部分は 180bp 前後の短い断片として血中に存在することから、ヌクレオソーム単位で切断されている可能性が以前より報告されていたが、本研究では転写開始点周辺のリード分布に注目して解析を行うことで、ヌクレオソーム構造に従った切断の痕跡を示すことに成功している。またヌクレオソーム構造を特に強く反映している遺伝子領域を抽出し、遺伝子リストに対して機能アノテーションを行うことで、血中遊離 DNA の由来組織を推定する方法論を考案している。さらに本章では、血中遊離 DNA には全ゲノム領域がほぼ均一に含まれること、原発腫瘍が有するコピー数変化や点突然変異の少なくとも一部が血中に反映されていること、および原発腫瘍には存在しない変異が血中遊離 DNA 中から見つかることを明らかにしている。このことは原発腫瘍由来の DNA だけでなく、

異なるゲノム変異を有するサブ集団由来の DNA が同時に血中に存在していた可能性を示唆している。

第 3 章では、研究対象を子宮体癌へと移し、子宮体癌患者の原発腫瘍の網羅的ゲノム解析を行っている。血中遊離 DNA に含まれるがん由来の DNA を特定するためには、がん細胞に特異的な遺伝子変異をマーカーとして用いることが一般に行われる。がんの遺伝子異常は患者ごとに様々であるため、まず原発腫瘍の網羅的な遺伝子変異解析を行って変異マーカーを選択したのち、これを利用して血中からの変異検出を行うという方法が、現在想定されている臨床での運用形態のひとつである。本章では子宮体癌 15 症例の原発腫瘍について全エクソーム解析を実施し、先行研究とよく一致する遺伝子変異プロファイルを得ている。

第 4 章では、第 3 章に引き続いて子宮体癌症例を扱い、血中循環腫瘍ゲノム検出の実践に取り組んでいる。腫瘍由来 DNA の血中存在比率は癌の種類や病期によって様々であることが知られているが、子宮体癌についてはこれまでにまとまった報告はなされていない。血行性転移がまれな癌であり、血中における腫瘍由来 DNA の比率は決して高くない事が予想されるため、本章では収集した 15 症例のうち最も病期が進んでいたステージ III の 3 症例について集中的に解析を行っている。第 3 章で得た原発腫瘍の変異解析結果を参照して合計 10 種類の変異マーカーを選択し、ターゲットアンプリコンシークエンス法を用いて血中からの変異検出を試みた結果、0.2%から 1%程度の頻度で存在した 7 つの変異の検出に成功している。一方で検出できなかった変異マーカーも存在したことから、本章で採用した変異検出法の有用性と課題について述べている。

第 5 章では、本論文で得られた研究成果について要約すると共に、未解決の課題や今後の展開に関する考察を述べている。

第 6 章は結語であり、本論文の成果を簡潔にまとめている。

以上のように、本論文の成果は婦人科癌の血中遊離 DNA の分子的性状とその検出方法に関して新たな知見を提供するものであり、血中遊離 DNA を用いた新しいがん診断技術の実用化に寄与することが期待される。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。