

審査の結果の要旨

氏名 中村 聡介

本研究は腫瘍由来循環 DNA(ctDNA)の臨床的有用性を検討するため、治療後の造血器腫瘍症例において ctDNA の残存の有無による再発予測を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 治療後に寛解が得られた 17 症例の造血器腫瘍症例を対象として、ctDNA の解析を行った。次世代シーケンサーを用いて 17 症例で、計 19 のドライバー変異を検出することができた。症例ごとに設計したドライバー変異を検出する ddPCR アッセイを用いて、ctDNA の測定を行い、ctDNA は治療反応性を反映していることがわかった。さらに再発した症例は全例が、ctDNA 陰性から陽性になるか、もしくは ctDNA の変異アレル頻度 (VAF) が 2 倍以上に上昇していた。対称的に寛解を維持した群では全例で ctDNA 陰性を維持しているか、VAF が 2 倍以上の上昇なく推移していた。最終的に ctDNA の上昇を認めた症例は有意に高い再発率を示した。
2. また再発を来した 8 症例において ctDNA を用いた分子学的再発と、従来のバイオマーカーによる臨床的再発による再発診断日の比較を行った。分子学的再発については ctDNA の VAF が 2 倍以上に上昇したタイミングを用いた。ctDNA を用いた分子学的再発は、従来法と比較し中央値 30 日早く、再発を特定することができた。
3. 骨髄破壊の前処置による同種造血幹細胞移植を行った急性骨髄性白血病および骨髄異形成症候群、51 症例を対象として解析を行った。診断時の骨髄検体 ( $T_0$ ) と、血清 cfDNA ( $S_0$ ) を用いて、ddPCR によるドライバー変異の VAF の比較を行った。 $T_0$  で検出した全てのドライバー変異を  $S_0$  でも検出することができた。さらに検出した変異の VAF は  $T_0$  と  $S_0$  で有意に相関があることが判明した。
4. 次に ctDNA の残存 (CP) と、骨髄中のドライバー変異の残存 (MP) による予後の検討を行った。検体はそれぞれ移植後 1 ヶ月 (CP1 または MP1) と 3 ヶ月 (CP3 または MP3) のものを用いた。CP1 と MP1、CP3 と MP3 の一致度の評価を行うと、いずれも相関が得られた。移植後の観察期間中に、51 例中 16 例が再発を来し、ctDNA や骨髄中のドライバー変異が残存している症例は、有意に累積再発率が高く、全生存率が低かった。
5. 次に従来のバイオマーカーである、骨髄検体によるキメリズム法による再発予測能の評価を行った。キメリズム法による混合キメラ (MCP) を用いて、移植後 1 ヶ月 (MCP1) と 3 ヶ月 (MCP3) の結果で解析を行った。そして MCP1 と MCP3 はともに再発に影響し、MCP3 は全生存率にも関連していた。そして CP と、MP、MCP の再発予測能の比較を行った。結果として、CP と MP、また CP と MCP を比較したところ有意な差は認めなかった。

さらに CP1 と CP3 を比較すると、CP3 の方が再発や生存を予測する精度が高かった。非侵襲的な ctDNA を用いた検査は、従来の骨髄検体による遺伝子検査やキメリズム法と同等に、移植後再発のリスクが高い症例を特定できる可能性が示唆された。

6. 9 症例から移植後 1 ヶ月と 3 ヶ月時点の 11 検体の末梢血単核球中のドライバー変異の残存の有無 (MP-PB) と、CP との比較を行った。11 検体中、8 検体において CP と MP-PB の結果は一致していた。さらに再発予測能を比較すると、CP の方が優れていた。これらの結果より、血清中の ctDNA を用いた遺伝子検査は、末梢血を用いた遺伝子検査より感度が高い可能性が示唆された。

以上、本論文は造血器腫瘍において、腫瘍由来循環 DNA を用いた解析を行い、その予後予測における有用性を検証した。本研究はこれまで未知に等しかった、造血器腫瘍、特に白血病における臨床的有用性を示すのに重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。