



Title	ターゲットシーケンス法を用いた膵がんの薬物応答性に関与する遺伝子変異プロファイルの作成と変異情報の予後予測バイオマーカーとしての有用性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	林, 秀幸
Description	配架番号 : 2164
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11682号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58905
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hideyuki_Hayashi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 林 秀幸

主査 教授 武富 紹信
審査担当者 副査 教授 山下 啓子
副査 教授 平野 聡
副査 教授 佐々木 秀直

学 位 論 文 題 名

ターゲットシーケンス法を用いた膵がんの薬物応答性に関与する遺伝子変異プロファイルの作成と変異情報の予後予測バイオマーカーとしての有用性に関する研究

(Studies on gene mutation profile of pancreatic cancer obtained using a single targeted deep sequencing assay and its utility as a prognostic biomarker)

申請者よりターゲットシーケンス法で検出したドライバー遺伝子 (*KRAS*, *CDKN2A*, *TP53*, *SMAD4*) の変異遺伝子数が膵がんの有望な予後予測バイオマーカーとなるという報告がされた。

審査にあたり、まず副査の山下教授から「変異遺伝子数は平均 1.6 と少ない結果であったがどう考えるか。」という質問があり、申請者は「既報では *KRAS*, *CDKN2A*, *TP53*, *SMAD4* 以外は少ないとのことであったが、depth（読み取り深度）が低いシーケンスでの結果であった。高い depth でシーケンスを試みることでより多くの変異を検出できると考えたが、結果は既報とほぼ同じ結果であり、やはり膵がんにおいては上記 4 遺伝子の変異が重要なドライバーであると考えられる。」と回答した。さらに「がん細胞の heterogeneity をどう考えているか。」という質問があり、申請者は「転移巣と原発巣のがん細胞では生じた遺伝子変異も異なることが考えられるため heterogeneity を考慮しなければならないが、今回は切除例を対象とした原発巣での検討であり、問題にならないと考えている。同一腫瘍内での heterogeneity はあるかもしれないが今回は考慮していない。」と回答した。副査の平野教授からは「使用した Cancer Panel は 50 のがん関連遺伝子を対象としているが、十分と判断しているか。」という質問があり、申請者は「十分とは考えておらず、最近になって変異が確認された遺伝子を含めた、より包括的なオリジナルの Cancer Panel を既に作成しており、現在研究を進めている。」と回答した。さらに「本研究ではほぼ全例で *KRAS* が変異していたが、*KRAS* を標的とした治療の今後の展開をどう考えるか。」という質問があり、申請者は「近年、同じ *KRAS* 変異であっても G12C の変異に対しては阻害薬が発見されており、同様の手法が他のパターンの変異に対しても応用できる可能性があると考えている。また別の方法として *KRAS* の直接阻害が難しくてもその下流の MAPK 経路を標的とした治療戦略も考えられる。さらに別の概念として合成致死性（*KRAS* 自体は阻害できなくても、それと組みとなる遺伝子を阻害することで *KRAS* の機能も阻害すること）を利用した治療戦略も考えられる。」と回答した。副査の佐々木教授からは「正常組織と腫瘍組織のモザイクな状態で変異をどうやって検出するの

か。」という質問があり、申請者は「従来のシーケンスでは腫瘍細胞含有割合が少ないと変異の検出は不可能であったが、次世代シーケンサーでは depth をあげることで正常組織がいくら混合していてもわずかな変異の検出も可能と考えている。」と回答した。さらに「今回使用した次世代シーケンサーでエラーはあったか。」という質問があり、申請者は「やはりシーケンスエラーは少数例認められ、特に多かったのが一塩基のずれをフレームシフト変異と読むエラーであったが、これらのエラーはサンガーシーケンスによる validation で除外できた。」と回答した。最後に主査の武富教授から「ターゲットシーケンスをする際にマイクロダイセクションは必要であるか。」という質問があり、申請者は「ターゲットシーケンスでは depth を 1000x 以上にあげることが出来るため、基本的にはマイクロダイセクションの必要なく、ごくわずかな腫瘍細胞含有割合の組織からも遺伝子変異の検出は可能と考えている。一方、サンガーシーケンスでは腫瘍細胞含有割合が少ない組織を用いる際にはやはりマイクロダイセクションは必要と考えられる。」と回答した。さらに「KRAS の変異パターン別で予後に差はあったか。」という質問があり、申請者は「本コホートでは各 KRAS 変異パターン別の生存解析は各々の症例数が少なく不十分と考えたため行っていない。しかし今後更なる症例集積を重ねて検証すべき課題と考えている。」と回答した。最後に「なぜ膀胱がんは KRAS 変異が多いか。」という質問があり、申請者は「一つの仮説として KRAS 変異が腫瘍細胞の悪性度を規定し、結果膀胱がんは大多数が KRAS 変異を持つことから極めて悪性度が高いのでは。他癌腫と比べて KRAS 変異が多い理由としては発生学的な原因が考えられる。」と回答した。

この論文は臨床ゲノムシーケンスによって得られたゲノムバイオマーカーの有用性につき示した点において高く評価され、今後の臨床応用ならびに、膀胱がん診療におけるゲノムバイオマーカーに基づいた新たな治療開発の可能性が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。