

## Evaluation of liquid biopsies for detection of emerging mutated genes in metastatic colorectal cancer

リキッドバイオプシーを用いた大腸癌肝転移における新規遺伝子変異の同定

日本医科大学大学院医学研究科 消化器外科学分野  
研究生 古木裕康

European Journal of Surgical Oncology (2018年掲載予定)

がんの遺伝子変異の検出は分子標的療法において重要である。原発巣とその転移巣では遺伝子変異はほぼ一致するが、転移巣には原発巣にない新たな変異（新規遺伝子変異）が出現する可能性がある。末梢血内の循環腫瘍DNA（circulating tumor DNA (ctDNA)）を用いて分子診断を行うリキッドバイオプシー（Liquid Biopsy (LB)）は、低侵襲で繰り返し行えることで、診断や治療選択、治療効果判定等に応用されることが期待されている。申請者らは、大腸癌原発巣と肝転移巣のゲノム不均一性をLBで同定することを試み、さらに次世代シーケンシング（Next-Generation Sequencing (NGS)）とデジタルPCR（digital PCR (dPCR)）の精度を比較した。

対象は同時性または異時性肝転移を有し手術を施行した22例の大腸癌患者である。原発巣および肝転移巣の凍結組織からDNAを抽出し、肝切除前に採取した血漿からctDNAを抽出した。これら3種類の検体を用いて、NGSとdPCRにより大腸癌関連の体細胞変異を検出し、新規遺伝子変異を同定できるかを検討した。

NGSにおいて、22例から7遺伝子23種36個の体細胞変異を検出した。最も頻度が高かったのはTP53であり、次いでKRAS、APC、PIK3CA、BRAF、FBXW7、NRASの順であった。2例から4個の新規遺伝子変異を認め、そのうち2例1例はctDNAから検出された。dPCRにおいても、同様の36個の体細胞変異を同定した。2例4個の新規遺伝子変異を認め、その全てがctDNAからも検出可能であった。NGSとdPCRを比較すると、肝転移巣に存在した変異のctDNAによる感度はNGSが64%、dPCRが89%とdPCRで有意に高かった（ $P=0.02$ ）。

以上の結果から、申請者らは大腸癌原発巣と肝転移巣の凍結標本とctDNAの検討により、1) 肝転移巣には原発巣にはない新規遺伝子変異が存在し、その変異はLBを用いて検出することができる、2) 新規遺伝子変異をLBで検出する時の感度はNGSよりもdPCRの方が良好である、という2つの重要な点を明らかにした。

第二次審査では、上記実験内容に加え、右側結腸と左側結腸での遺伝子変異の差異、NGSとdPCRの使い分け、腫瘍マーカーとの関連などについて幅広い質疑が行われたが、いずれも的確な回答がなされた。

本研究は大腸癌およびその肝転移における新規遺伝子変異をNGSおよびdPCRによるLBで同定し、その重要性を初めて確認したもので、大腸癌分子標的療法の発展に寄与するものと考えられた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。