

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	井 田 耕 一
論文審査担当者	主 査 伊 藤 研 一 副 査 小 泉 知 展・古 庄 知 己
論文題目	Effectiveness of a genetic test panel designed for gynecological cancer: an exploratory study (婦人科癌用に設計された遺伝子検査パネルの有用性：探索的研究)
(論文の内容の要旨)	<p>【研究の背景と目的】近年、次世代シーケンサー (NGS) の開発・普及により日常検査レベルで遺伝子の網羅的解析が可能となり、特に癌における precision medicine にこの技術が応用され始めた。すなわち、癌の発生や進行に関与する複数の遺伝子の変異を解析する遺伝子パネル検査により、当該腫瘍のドライバー変異を同定し、その遺伝子変異に対する治療薬が選択される医療が、いわゆるクリニカルシーケンスとして実現しつつある。一方、本邦で保険適応となった遺伝子パネル検査は腫瘍横断的にデザインされているため、NCC オンコパネルが 114 遺伝子、FoundationOne CDx が 324 遺伝子と、多数の遺伝子が包括的に搭載されており、婦人科癌に関連の乏しい遺伝子も多い。また、これら既存の遺伝子パネル検査は 56 万円と高額であり、末期癌患者とその家族には負担が大きい上に、ここで見いだされる遺伝子変異のうち、治療標的となる可能性のある「actionable 変異」が見いだされる患者は 30-50%であり、さらに、標的治療薬が検証されている「druggable 変異」から、実際に個別医療を受ける患者は 3-13%に留まる。つまり、既存パネルは効率、費用対効果といった面で、未解決の多くの問題が存在する。こうした問題に対応すべく、当教室では婦人科癌で変異報告のある 28 の actionable かつ druggable な遺伝子に絞った新規遺伝子パネル TANRE-G (Targeted variants ANalysis RElated to Gynecological cancers) を設計して、婦人科癌における precision medicine の効率化・コスト削減を図り、さらに自施設の NGS 解析の精度検証を目標とした。</p> <p>【方法】既報の婦人科癌に関する文献や、CIViC、OncoKB、ClinicalTrials.gov などの公開データベースを参照し、婦人科癌で変異頻度の高い actionable/druggable な 28 遺伝子を選択した。なお TP53 遺伝子には治療可能性を有する標的薬が現時点で存在しないため除外した。2016 年から 2017 年に信州大学医学部付属病院で治療した再発・難治性の婦人科癌 11 症例 (子宮体癌 4 例、卵巣癌 4 例、子宮頸癌 3 例) を後方視的に選択し、すべて初回手術より検体を得て、同一症例において適切にホルマリン固定された組織より腫瘍と正常子宮筋層 (コントロール) の DNA を抽出し、ペア解析を行った。年齢の中央値は 57 歳 (44-78 歳) で、11 症例中 6 例が III-IV 期の進行癌であった。シーケンス解析には Ion PGM を使い、変異抽出には Torrent Variant Caller (5.8.0.19) と Integrative Genomics Viewer Version 5.01 (0) を用いた。遺伝子変異やコピー数変異の解析には IonReporter Software 5.6 を使用し、変異候補抽出は公開データベースである SIFT、Polyphen-2、ClinVar を用いて行った。また抽出された遺伝子変異候補に対しては Sanger 法を用いて、そしてコピー数変異については免疫染色法によりそれぞれ検証を行った。</p>

【結果】腫瘍および正常組織 DNA の標的配列領域の平均 read 数はそれぞれ 3400×と 350×であり、解析に十分であった。Actionable 変異は全 11 症例で 32 か所が同定され、内訳は missense 変異 22 か所 (69%)、nonsense 変異 6 か所 (19%)、frameshift-deletion 変異 1 か所 (3%)、amplification 3 か所 (9%) であった。腫瘍毎の actionable 変異は、子宮体癌 4 例に 18 変異 (コピー数変異なし)、卵巣癌 3 例に 5 変異 (うちコピー数変異 2)、子宮頸癌 1 例に 2 変異 (うちコピー数変異 1) が同定された。それぞれの変異は Sanger 法でも確認され、amplification については免疫染色で当該分子の発現増強が確認された。この TANRE-G における actionable 変異の検出率は 11 例中 8 例 (73%) であり、既存の NCC オンコパネル (45%) と同等であった ( $p=0.115$ )。また TANRE-G の検査コストは 94000 円 (850USD) に削減できた。

【結論】本探索的研究により、当科で設計した婦人科癌用の新規遺伝子パネル TANRE-G は、大幅な検査コスト削減を達成しつつ、婦人科癌においては既存のパネルと同等の actionable 変異抽出率を保てており、既存パネルに比較して費用対効果が大きいことが示された。本パネル検査は、今後進められる婦人科癌の precision medicine において、有力なツールとなる可能性が考えられた。

研究指導者 信州大学医学部教授 塩沢 丹里

研究場所 信州大学医学部 産科婦人科学 教室

