

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	住 吉 崇 幸
論文題目	Clinical utility of androgen receptor gene aberrations in circulating cell-free DNA as a biomarker for treatment of castration-resistant prostate cancer (去勢抵抗性前立腺癌の治療における血漿遊離 DNA のアンドロゲン受容体遺伝子異常のバイオマーカーとしての臨床的有用性の検討)		
(論文内容の要旨) 【目的】 転移性前立腺癌の標準治療はアンドロゲン除去療法だが、やがて去勢状態でも進行する去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)となる。現在 CRPC ではアビラテロンやエンザルタミド等の新規ホルモン薬やドセタキセル、カバジタキセルなどの化学療法薬が使用できるが、治療効果は症例や病態毎に異なる。最適な治療選択の指標となるバイオマーカーが必要とされており、侵襲が少なく繰り返し採取できる血中遊離 DNA(cfDNA)に着目した。cfDNA は血液中に微量にしか存在しないうえ、腫瘍由来のもの(ctDNA)は cfDNA 全体の 10%以下のことが多い。そこで CRPC の病態に主に関わるアンドロゲン受容体遺伝子 (AR) のコピー数(CN)や変異を高感度に検出できる方法を確立し、CRPC 症例の cfDNA でバイオマーカーとしての有用性を検討した。 【方法】 CN や変異の解析にはデジタル PCR(dPCR)と次世代シーケンサー(NGS)を用いた。まず AR の増幅や変異を有する細胞株(VCaP, LNCaP)を用いて条件検討を行った。続いて CRPC 症例 102 例の cfDNA で AR を評価し、AR の異常(増幅または変異)と関連する臨床病理学的因子、新規ホルモン薬の治療効果との関連、経時的な AR の変化について検討した。 【結果】 dPCR による CN 解析では VCaP DNA を 1.0%まで希釈しても AR の増幅を同定することができた。また変異解析では LNCaP DNA を NGS では 1.0%まで、dPCR では 0.1%まで希釈しても AR の変異を同定することができた。臨床検体での解析では、AR の増幅は健常者の cfDNA の AR コピー数を元に閾値を設定した。AR の変異は NGS での変異アレル頻度(VAF)が 1.0%以上と定義したが、既知のホットスポット(L702H, W742C/L, H875Y, T878A)では VAF が 0.5-1.0%でも dPCR で陽性ならば変異ありとした。CRPC 症例の cfDNA では 61 例(59.8%)に AR の異常を示し、そのうち 47 例(46.1%)では増幅を、25 例(24.5%)では計 34 個の変異を認めた。変異は主にホットスポットに集中し、1.0%未満の低頻度変異も 11 個同定された。cfDNA の AR に異常を認める臨床病理学的因子として、cfDNA 濃度が高い症例や 3 種類以上の薬剤に耐性を有する症例などが挙げられた。新規ホルモン薬の治療効果との関連を検討したところ、cfDNA の AR に増幅、L702H、H875Y、T878A を少なくとも 1 つ認める症例ではアビラテロンの治療効果が不良になる傾向を示したが(PSA 無再発期間 66.5 日 vs 342 日, p=0.087 ログランク検定, p=0.007 Cox 比例ハザード分析)、エンザルタミドでは AR の異常と治療効果との間に関連は認められなかった(PSA 無再発期間 205 日 vs 未到達, p=0.117 ログランク検定)。41 例で経時的に cfDNA を採取し AR を追跡したところ、治療奏効中には治療開始前に認められた AR の異常の大半が消失した。治療耐性時には AR の異常が新たに出現する症例もあれば、治療開始前に認められた異常が消失する症例も認められた。 【結語】 NGS と dPCR を組み合わせることで、CRPC 症例の cfDNA で AR の増幅や変異を高感度に同定することができた。AR の異常の検出がアビラテロンの治療効果と関連することが示唆されるとともに経時的に AR の変化を追跡できることが分かり、治療選択の際のバイオマーカーとして有用な可能性があると考えられた。			

(論文審査の結果の要旨)

去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) では多様な治療薬の選択が可能となっており、最適な治療薬を選択するためのバイオマーカーが求められている。申請者は血中遊離 DNA (cfDNA) に着目し、cfDNA のアンドロゲン受容体遺伝子 (AR) のコピー数や変異を解析した。

まず、デジタル PCR と次世代シーケンサーを用いて、正常の DNA に希釈された前立腺癌細胞株由来 DNA における AR の異常 (増幅または変異) を高感度で同定する方法を確立した。続いて CRPC 症例 102 例の cfDNA で AR を評価したところ、47 例 (46.1%) に増幅を、25 例 (24.5%) に計 34 個の変異を認めた。cfDNA に AR の異常が同定される因子として、cfDNA 濃度が高いことや 3 種類以上の薬剤に耐性を示すことなどが示された。治療効果との関連を検討した結果、cfDNA の AR に増幅や L702H、H875Y、T878A のいずれかの変異を認める症例ではアビラテロンの効果が不良になる傾向があった。経時的に cfDNA を採取できた 41 例の AR を調べたところ、薬剤奏効中はほとんどの症例でベースラインの AR の異常が消失した。また、薬剤耐性時には AR に新たな異常が出現する症例を認めた。

以上の研究は CRPC における cfDNA の AR 解析法の確立に貢献し、前立腺癌のバイオマーカーの開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和元年 5 月 14 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降