

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 厚東 由里佳

〔題名〕

Novel liquid biopsy test based on a sensitive methylated SEPT9 assay for diagnosing hepatocellular carcinoma

(肝細胞癌診断における高感度メチル化解析法による新規リキッドバイオプシーの開発)

〔要旨〕

リキッドバイオプシーが様々な悪性腫瘍の診断に有望視されているが、肝細胞癌の診断に実用化されているものは存在しない。米国で承認されているEpi proColon®は血漿中のメチル化SEPT9をターゲットとした大腸癌のスクリーニング検査として初承認されたりキッドバイオプシーである。しかし、多量の血漿が必要であり、定量性がないことが問題点である。我々は少量のDNAから数コピーでもメチル化DNAを定量的に検出できる高感度メチル化解析法を新規開発した。本研究ではこの解析法を用いてメチル化SEPT9による肝細胞癌の診断能を評価した。対象は健常者(healthy control)80人、肝細胞癌のない慢性肝疾患患者(CLD) 45人、肝細胞癌患者(HCC)136人(BCLC stage 0, 12; A, 50; B, 31; C, 41, and D, 2)である。方法は、メチル化感受性制限酵素を用いてDNAを2段階処理し、ドロップレットデジタルPCR(ddPCR)を行った。メチル化SEPT9のコピー数の中央値は、healthy control群0.0コピー、CLD群2.0コピー、HCC群6.4コピーであり、各群で有意差を認めた (HCC vs. healthy control, $P < 0.001$; HCC vs. CLD, $P = 0.002$; CLD vs. healthy control, $P = 0.008$)。healthy control群からHCC群を検出するためのcut offを4.6コピーと設定すると感度63.2%、特異度90.0%となった。さらに、肝細胞癌のステージが進行するにつれて、メチル化SEPT9 4.6コピー以上の陽性率が増加した(BCLC stage 0, 41.7%; A, 58.0%; B, 61.3%; C, 75.6%, and D, 100%)。高感度メチル化SEPT9解析法は肝細胞癌診断のリキッドバイオプシーとなり得る可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

令和2年8月17日

報告番号	甲 第 1593 号	氏 名	厚東 由里佳
論文審査担当者	主査教授	田邊 剛	
	副査教授	山崎 隆弘	
	副査教授	坂井 田 功	
学位論文題名 (題名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Novel liquid biopsy test based on a sensitive methylated SEPT9 assay for diagnosing hepatocellular carcinoma (肝細胞癌診断における高感度メチル化解析法による新規リキッドバイオプシーの開発)			
学位論文の関連論文題名 (題名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Novel liquid biopsy test based on a sensitive methylated SEPT9 assay for diagnosing hepatocellular carcinoma (肝細胞癌診断における高感度メチル化解析法による新規リキッドバイオプシーの開発) 掲載雑誌名: Hepatology communications 第 4 巻 第 3 号 P.461 ~ 470 (2020年 1 月 掲載)			
(論文審査の要旨) リキッドバイオプシーが様々な悪性腫瘍の診断に有望視されているが、肝細胞癌の診断に実用化されているものは存在しない。米国で承認されている Epi proColon® は血漿中のメチル化 SEPT9 をターゲットとした大腸癌のスクリーニング検査として初承認されたリキッドバイオプシーである。しかし、多量の血漿が必要であり、定量性がないことが問題点である。我々は少量の DNA から数コピーでもメチル化 DNA を定量的に検出できる高感度メチル化解析法を新規開発した。本研究ではこの解析法を用いてメチル化 SEPT9 による肝細胞癌の診断能を評価した。対象は健常者(healthy control)80 人、肝細胞癌のない慢性肝疾患患者(CLD)45 人、肝細胞癌患者(HCC)136 人(BCLC stage 0, 12; A, 50; B, 31; C, 41, and D, 2)である。方法は、メチル化感受性制限酵素を用いて DNA を 2 段階処理し、ドロップレットデジタル PCR(ddPCR)を行った。メチル化 SEPT9 のコピー数の中央値は、healthy control 群 0.0 コピー、CLD 群 2.0 コピー、HCC 群 6.4 コピーであり、各群で有意差を認めた (HCC vs. healthy control, $P < 0.001$; HCC vs. CLD, $P = 0.002$; CLD vs. healthy control, $P = 0.008$)。healthy control 群から HCC 群を検出するための cut off を 4.6 コピーと設定すると感度 63.2%、特異度 90.0%となった。さらに、肝細胞癌のステージが進行するにつれて、メチル化 SEPT9 4.6 コピー以上の陽性率が増加した(BCLC stage 0, 41.7%; A, 58.0%; B, 61.3%; C, 75.6%, and D, 100%)。高感度メチル化 SEPT9 解析法は肝細胞癌診断のリキッドバイオプシーとなり得る可能性が示唆された。			
備考 審査の要旨は800字以内とすること。			