

# 学位論文審査結果の報告書

氏 名 高濱 隆幸

---

生 年 月 日 昭和 58年 8月 31日

本 籍 ( 国 籍 ) 香川

---

学 位 の 種 類 博 士 ( 医 学 )

学 位 記 番 号 医 第 1257 号

学位授与の条件  
(博士の学位) 学位規程第5条該当

論 文 題 目  
Detection of the T790M mutation of *EGFR* in plasma of advanced non-small cell lung cancer patients with acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors (West Japan oncology group 8014LTR study)

---

EGFR-TKIに耐性を獲得した非小細胞肺癌患者における血漿中*EGFR* T790M 遺伝子変異検出の検討

---

学位論文受理日 2017年 11月 7日

学位論文審査終了日 2018年 1月 25日

審 査 委 員 (主 査) 光富 徹哉

---



(副主査) 岡田 斉

---



(副主査) 上裕 俊法

---



(副 査)

---



指 導 教 員 中川 和彦

---



# 論文内容の要旨

## 【目的】

EGFR（上皮成長因子受容体）遺伝子変異陽性肺癌において、第一・二世世代 EGFR-TKI（チロシンキナーゼ阻害剤）は良く奏効するが、獲得耐性遺伝子変異として EGFR T790M 遺伝子変異が約半数の症例で生じる。EGFR T790M 遺伝子変異にも有効な薬剤の登場によって、組織生検を再度行い（再生検）、T790M 遺伝子変異の有無を確認することが重要となってきた。しかし、肺癌患者において再生検を行って組織を採取することは侵襲的であり、採取出来ないことも多い。そこで、低侵襲な方法として、腫瘍由来の血液中遊離 DNA（cfDNA）を用いて、T790M 遺伝子変異を検出することへ期待が集まった。我々は、高感度な遺伝子変異検出の方法として droplet digital PCR 法を用いて、血漿サンプルから cfDNA 中の T790M 遺伝子変異を検出する検出系の臨床的有用性を確認する検討を行った。

## 【方法】

過去に少なくとも 1 種類以上の EGFR-TKI へ耐性を獲得した、EGFR 遺伝子変異陽性患者を対象に cfDNA 中から EGFR T790M 遺伝子変異の検出を行う。その際、「同意取得、検体搬送、測定、14 日以内の結果返却」までを一連の assay と定義し、95% 以上の assay success rate が得られるかどうかを検討する。

## 【結果】

2014 年 11 月から 2015 年 3 月の間に 29 施設から 260 例の同意を取得した適格患者が登録された。血漿検体の処理と送付、DNA の抽出、測定結果の返却を含む assay success rate は 100% であった。また、血漿 cfDNA から、EGFR 遺伝子変異、T790M 遺伝子変異はそれぞれ 46.2%（120/260 例）、28.8%（75/260 例）で検出された。組織検体、胸腹水検体は 41 例が集まり、血漿との一致率は EGFR 遺伝子変異、T790M 遺伝子変異がそれぞれ 78.0%、65.9% であった。EGFR 遺伝子変異が血漿から検出出来た 120 例において、T790M 遺伝子変異の検出割合は 56.7% であった。

## 【考察】

主解析の assay success rate は 100% であり、多施設化を行った場合において血漿からの T790M 遺伝子変異の検出を行う assay は十分に機能することが示された。同時に、28.1%（73/260 例）の患者においては、再生検が一般的に困難と思われる部位（脳、骨、副腎）しか転移箇所をもたず、このような対象には特に血漿を用いた遺伝子変異検出が有効であると考えられた。

## 【結論】

血漿遊離 DNA を用いた droplet digital PCR での遺伝子検査は、分子標的治療薬を用いる治療方針の決定において有望な方法である。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出 版 物 の 種 類 及 び 名 称
	2017年 8 月 16 日 公 表	博士学位論文
	Detection of the T790M mutation of <i>EGFR</i> in plasma of advanced non-small cell lung cancer patients with acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors (West Japan oncology group 8014LTR study)	Oncotarget 2016 : 7 : 58492-58499
	全 文	2017年 8 月 16 日 掲 載

## 論文審査結果の要旨

### 1) 論文内容の要旨

【目的】：EGFR(上皮成長因子受容体)遺伝子変異陽性肺癌において、第一・二世世代EGFR-TKI(チロシンキナーゼ阻害剤)は良く奏効するが、獲得耐性遺伝子変異としてEGFR T790M変異が約半数の症例で生じる。EGFR T790M遺伝子変異にも有効な薬剤の登場によって、組織生検を再度行い(再生検)、T790M遺伝子変異の有無を確認することが重要となってきた。しかし、肺癌患者において再生検を行って組織を採取することは侵襲的であり、採取出来ないことも多い。そこで、低侵襲な方法として、腫瘍由来の血液中遊離DNA(cfDNA)を用いて、T790M遺伝子変異を検出することへ期待が集まった。我々は、高感度な遺伝子変異検出の方法としてdroplet digital PCR法を用いて、血漿サンプルからcfDNA中のT790M遺伝子変異を検出する検出系の臨床的有用性を確認する検討を行った。

【方法】：過去に少なくとも1種類以上のEGFR-TKIへ耐性を獲得した、EGFR遺伝子変異陽性患者を対象にcfDNA中からEGFR T790M遺伝子変異の検出を行う。その際、「同意取得、検体搬送、測定、14日以内の結果返却」までを一連のassayと定義し、95%以上のassay success rateが得られるかどうかを検討する。

【結果】：2014年11月から2015年3月の間に29施設から260例の同意を取得した適格患者が登録された。血漿検体の処理と送付、DNAの抽出、測定結果の返却を含むassay success rateは100%であった。また、血漿cfDNAから、EGFR遺伝子変異、T790M遺伝子変異はそれぞれ46.2%(120/260例)、28.8%(75/260例)で検出された。組織検体、胸腹水検体は41例が集まり、血漿との一致率はEGFR遺伝子変異、T790M遺伝子変異がそれぞれ78.0%、65.9%であった。EGFR遺伝子変異が血漿から検出出来た120例において、T790M遺伝子変異の検出割合は56.7%であった。

【考察】：主解析のassay success rateは100%であり、多施設化を行った場合において血漿からのT790M遺伝子変異の検出を行うassayは十分に機能することが示された。同時に、28.1%(73/260例)の患者においては、再生検が一般的に困難と思われる部位(脳、骨、副腎)にしか転移箇所をもたず、このような対象には特に血漿を用いた遺伝子変異検出が有効であると考えられた。

### 2) 審査結果の要旨

本論文に対する最終試験は、平成30年1月11日(木)の午後4時から、進学棟3階第2講義室において行われた。最終試験では高濱氏から本研究を行うに至った背景、対象と方法、結果と考察が発表され、それらに対して副主査である岡田教授、上裕教授ならびに主査の光富から幾つかの質問を行った。

まず岡田教授からは、本研究における高濱氏の占める具体的な寄与について質問がなされた。試験デザインの構築、施設選定、多施設における適切な検体調製の周知徹底、日々のメールによる連絡による症例集積の促進など、試験事務局として主体的に関わったことが説明された。次に、この血漿検査の将来展望について質問が出された。高濱氏からは、検出されたT790M変異がオシメルチニブの効果予測に臨床的に有用であるかについての検討を現在行っていることが説明された。

次に、上裕教授からは、今回用いられたカットオフ値の設定について質問が出された。高濱氏からは、組織を採取困難な対象であり、本法ではバックグラウンドノイズが0 copy/ $\mu$ lであったので、既報を用いて0.15 copies/ $\mu$ lをカットオフ値として用いた理由が説明された。

最後に、主査の光富が研究の対象に、初期耐性症例は含まれているのかどうか質問した。本研究では、適格基準の中で初期耐性症例は除外しておらず、登録されている。初期耐性であったかどうかは登録時に申告されたbest responseと治療期間で判断することが出来ると回答された。次にDNA copy数の測定原理や測定値の分布等について質問した。Real time PCR法を用いてゲノムDNAの定量測定を行ったこと、測定値は0.15-600copies/ $\mu$ lまで広汎に分布することが説明された。

これらの質疑応答を踏まえて、主査・副主査合議の上、本研究が高濱氏の手によるものを確認し、研究内容が学位授与相当であると判断した。

3) 最終試験の結果：合格

4) 学位授与の可否：可