

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Methylation status and long-fragment cell-free DNA are prognostic biomarkers for gastric cancer

cell-free DNA のメチル化レベルと long-fragment 濃度は
胃癌の予後予測因子である

日本医科大学大学院医学研究科 消化器外科学分野
大学院生 高 和英
Cancer Medicine, Volume10, Issue6 (2021年) 掲載
DOI: 10.1002/cam4.3755

血中には細胞外に逸脱した cell-free DNA (cfDNA) が存在する。cfDNA のうち、がん特有の変異を有するものは Circulating tumor DNA (ctDNA) と呼ばれる。Liquid biopsy として ctDNA の検出は有用で、術後に ctDNA が同定されれば、Minimal Residual Disease (MRD) と呼ばれる腫瘍細胞の遺残が示唆される。本論文では胃癌患者を対象に、Liquid biopsy として染色体不安定性や染色体異常の指標となる血中 LINE-1 遺伝子のメチル化レベルおよび cfDNA の測定を行った。2016 年 10 月から 2018 年 3 月までに当院で治療された 99 人の胃癌患者 (90 人が根治切除)、対照とした 8 人の良性疾患患者から採血検体を得た。cfDNA の測定には quantitative PCR を、LINE1 メチル化レベルの測定にはメチル化制限酵素を用いた PCR である HELP (HpaII tiny fragment Enrichment by Ligation-mediated PCR) 法を用いて測定を行い、それらの推移が予後予測因子となるかを検証した。胃癌患者の LINE-1 メチル化レベルは良性疾患患者よりも有意に低く ($P = 0.006$)、Stage I 胃癌患者のメチル化レベルは良性疾患患者よりも有意に低かった ($P = 0.005$)。また遠隔転移を伴う IV 期の患者群のメチル化レベルは、腫瘍が現局している I~III 期の患者群と比較して有意に低く ($P = 0.04$)、低メチル化レベル群は高メチル化レベル群より予後不良であった (log-rank 検定 $P = 0.006$)。longLINE-1 濃度においても、手術前に高濃度であった患者群の RFS と OS は、低濃度群よりも悪い傾向が見られていた (log-rank 検定 $P = 0.11$ および $P = 0.21$ 、Cox 回帰分析 $P = 0.13$ および $P = 0.21$)。術後サンプルが利用可能であった根治手術を受けた 49 人の患者のうち、13 人 (26.5%) が再発した。再発群の longLINE1 濃度は、手術前より再発時で有意に増加していたが ($P < 0.01$)、術後ですでに有意差を認めていた ($P < 0.01$)。また術後の longLINE1 高値群の RFS および OS は、低濃度群よりも有意に悪かった (log-rank 検定 $P = 0.009$ および $P = 0.04$ 、Cox 回帰分析 $P = 0.04$ 、 $P = 0.09$)。再発時のメチル化レベルは術前よりも有意に低かったが ($P < 0.01$)、手術後のメチル化レベルは手術前と差はなかった。術後のメチル

化レベルは2群間においても、PFS (P=0.66) および OS (P=0.43) で影響はみられなかった。これらの結果から血中 LINE-1 遺伝子のメチル化レベルおよび cfDNA の測定は Liquid biopsy としての有用性が示唆された。血中 LINE1 の低メチル化は胃癌の進行との相関が示唆され、術前のメチル化レベル低下例は予後不良であった。再発群の cfDNA 濃度は、術後ですでに有意に高濃度を示し、MRD を反映している可能性が高いことが示唆された。これらは小数例での検討であり、その意義については今後の検討が必要である。