

Development of an optimal protocol for molecular profiling of tumor cells in pleural effusions at single-cell level

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2020-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 中村, 育子 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2002443

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2197 号

Identification of an alectinib-resistant mutation in EML4-ALK by single-cell sequencing of floating tumor cells in malignant pleural effusion

悪性胸水中腫瘍細胞のシングルセル解析によるアレクチニブ耐性遺伝子の同定

中村 育子 (なかむら いくこ)

博士 (医学)

論文審査結果の要旨

本論文は、少量の悪性胸水検体から効率的に網羅的遺伝子解析を行うことを目的に行われた。筆者らは肺がん患者から得られた胸水の細胞成分に対して、血球成分を除去して濃縮したのち、DEPArray で解析を行った。DEPArray は細胞形態と蛍光染色をもとに細胞を選択し、誘電電動を用いて、シングルセルから細胞を回収することのできる機械である。回収した個々の細胞は全ゲノム増幅(WGA)後に、ターゲットシーケンス、全ゲノムシーケンス、2種類のパネルシーケンスを行った。回収された細胞のうち、60~80%の細胞がサンガーシーケンスから腫瘍細胞と同定された。また、パネルシーケンスの結果、EML4-ALK 融合遺伝子陽性肺癌患者胸水からは分子標的治療薬耐性遺伝子の ALK G1202R の検出に成功した。本研究では少量の胸水を2つの異なる手法で濃縮して、純度の高い腫瘍細胞を回収することで、網羅的な遺伝子解析を行うことに成功した。WGA は不均一なゲノム増幅とエラーが問題となるが、サイクル数の最適化により不均一性を是正し、各変異の発現割合の分布参考にエラーを除去することで、解析が可能となった。実際に、パネルシーケンスの結果から検出された薬剤耐性遺伝子 ALKG1202R は患者の薬剤耐性機序と考えられ、この解析が臨床的には治療方針の決断にも有意義な情報を与えうることが示された。今回の手法は従来法と比較してより正確な末梢血の循環腫瘍細胞の検出にも応用が期待され、非侵襲的かつ経時的に患者の原発巣及び転移巣の遺伝情報を得ることで、診断や治療方針の決定に貢献できる可能性が示唆された。本論文は、微量胸水や末梢血の循環腫瘍細胞(CTC)において、シングルセルレベルでの網羅的なゲノムプロファイリングを行うことで、最適な個別化医療への応用が期待される論文である。

よって、本論文は博士(医学)の学位を授与するに値するものと判定した。