

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16842

研究課題名（和文）全ゲノム解析による甲状腺濾胞性腫瘍の術前鑑別診断法の開発

研究課題名（英文）Development of preoperative diagnosis method for follicular thyroid tumor by whole genome sequencing

研究代表者

岸川 敏博（Toshihiro, Kishikawa）

大阪大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20756944

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：甲状腺濾胞癌の中でも予後不良なグループである広範浸潤型・遠隔転移症例15例、濾胞腺腫10例を対象に各症例のホルマリン固定したサンプルからDNAを抽出した。それぞれ、腫瘍中心部と先進部から抽出しバイオアナライザーを用いてクオリティチェックを行い、いずれのサンプルもDNAの品質に問題ないことを確認した。全エクソンシーケンスを施行し、現在シーケンス結果を解析中である。また同サンプルのメチル化解析も並行して実施し施行していく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義
シーケンスデータの解析結果により、甲状腺濾胞性腫瘍における術前鑑別診断法の確立が期待される。その結果、現在広く行われている濾胞腺腫の手術を回避することが可能となり、患者の生活の質向上に寄与するだけでなく、医療経済的にも意義を持つ。また、濾胞癌では術前診断での浸潤型に応じて術式を甲状腺葉切除あるいは全摘と決定する個別化医療が可能となり、その医学的意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：DNA was extracted from formalin-fixed samples of 15 patients with widespread invasion and distant metastasis and 10 patients with follicular adenoma, which are a group with poor prognosis among thyroid follicular cancers. Each sample was extracted from the tumor center and the advanced part. We checked the quality of DNA using a bioanalyzer and confirmed that there was no problem in DNA quality in any samples. All exon sequences have been performed and the sequence results are currently being analyzed. In addition, we are going to conduct the methylation analysis of the same samples in parallel.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：術前鑑別診断法

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

甲状腺癌は内分泌系悪性腫瘍としては最も頻度が高く、本邦における年間罹患数は約 **18,000** 人である。濾胞癌は甲状腺癌の約 **6%** を占め乳頭癌に次いで多い。甲状腺腫瘍の最も有用な術前鑑別診断法は穿刺吸引細胞診 (FNA) である。しかし、濾胞癌と濾胞腺腫の鑑別所見である脈管あるいは被膜浸潤の有無は、FNA で捉えることが困難なため、いずれも濾胞性腫瘍と診断される。即ち、明らかな転移巣が存在しない限り、術前に甲状腺濾胞性腫瘍の良悪性を鑑別診断することは不可能であり、確定診断は術後の病理組織学的検査に委ねられているのが現状である。一般に径 **4 cm** 以上や増大傾向を認める濾胞性腫瘍は手術適応となり、甲状腺葉峡切除が行われるが (図 1) 術後に濾胞癌と診断されるのはその **10%** 程度に過ぎない。本来不要な手術が数多く行われており、反回神経麻痺などの術後合併症によって **QOL** が低下する患者も少なくない。濾胞癌は脈管や被膜浸潤の程度により微小浸潤型と広汎浸潤型に分類される。病理組織学的検査で広汎浸潤型と診断された場合、残存する甲状腺健側葉の摘出 (補完全摘) と放射線ヨードによる治療を行う。再手術となる補完全摘は合併症を高率に生じる。広汎浸潤型は **5 年生存率 30-40%** と予後不良であり、早期診断、早期治療介入が求められている。

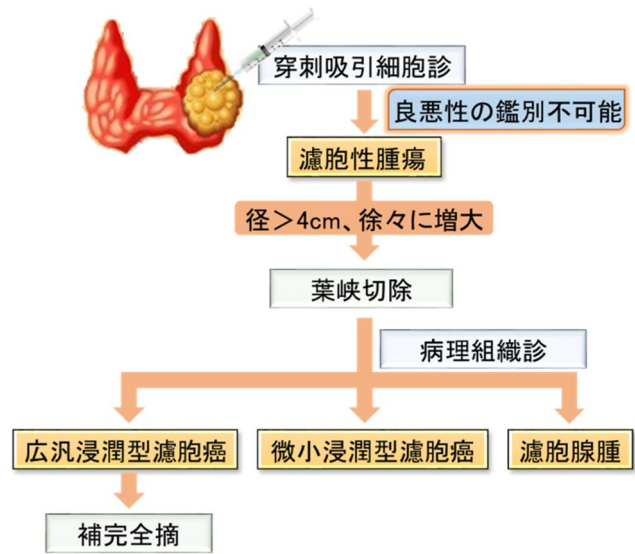


図1 甲状腺濾胞性腫瘍の鑑別診断

2. 研究の目的

近年、次世代シーケンサーを用いたゲノム研究が急速に進歩している。悪性腫瘍においては、ドライバー遺伝子変異 (がん細胞の発生・進展に直接的且つ重要な役割を果たす変異) の新規発見が相次いでいる。甲状腺濾胞性腫瘍においても、良悪性の鑑別診断を遺伝学的アプローチから行う試みがなされてきた。しかし、濾胞癌に認められる変異において濾胞腺腫との鑑別を可能にするほど有意なもの、これまで報告されていない。比較的希少な疾患でもあり、全ゲノム解析を始めとする網羅的解析から臨床への応用を目的とした報告は未だ国内外から皆無である。本研究の目的は大きく二つある。一つ目は甲状腺濾胞性腫瘍のゲノムワイドな解析を行い、甲状腺濾胞腺腫、微小浸潤型濾胞癌、広汎浸潤型濾胞癌の鑑別マーカーとなる遺伝子変異を同定することである。二つ目は同定した変異を **liquid biopsy** 検体で検出する方法を確立し、術前の鑑別診断を実現することである。

3. 研究の方法

濾胞腺腫、微小浸潤型・広汎浸潤型濾胞癌の手術摘出検体を対象に、次世代シーケンサーを用いてゲノム解析を行い、濾胞性腫瘍に共通する変異や濾胞癌に特異的な変異の同定を試みた。

甲状腺濾胞癌の中でも予後不良なグループである広汎浸潤型・遠隔転移症例 15 例、濾胞腺腫 10 例を対象に各症例の FFPE サンプルから DNA を抽出した。それぞれ、腫瘍中心部と先進部から抽出しバイオアナライザーを用いてクオリティチェックを行い、いずれのサンプルも DNA の品質に問題ないことを確認した。

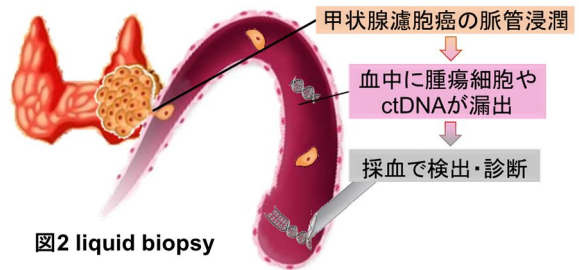
ゲノム解析

- ・全エクソンシーケンスを施行し、現在シーケンス結果を解析中である。
 - ・また同サンプルのメチル化解析も並行して実施する予定である。
 - ・以下のような変異の同定を目指す
- a. 正常の甲状腺組織には認めず、濾胞性腫瘍にのみ共通して認められる変異
 - b. 濾胞腺腫には認めず、広汎浸潤型濾胞癌にのみ共通して認められる変異
- 検証コホートにおけるドライバー遺伝子変異の証明
- ・上記の探索的試験で同定したドライバー遺伝子変異が、別の手術摘出検体から成るコホートにおいても腫瘍特異的に検出されることを証明する。現在はサンプルの収集段階であり、濾胞性腫瘍と正常甲状腺組織の手術標本に対して凍結保存を施行している。本検証にあたっては、広汎浸潤型濾胞癌、微小浸潤型濾胞癌をそれぞれ 20 例、濾胞腺腫を 50 例用いるものとする。変異の検出は PCR + direct sequencing により行う。

4. 研究成果

シーケンスデータを現在解析中である。濾胞癌、もしくは濾胞性腫瘍に特異的な遺伝子変異を同定し、検証コホートへと行程を進める予定としている。また、その後は本来の予定通り、liquid biopsy 検体による術前鑑別診断法の確立へとつなげていく(図2)。本研究では血液検体において、腫瘍部のゲノム解析で同定された遺伝子変異のコピー数を、微量サンプルにおける絶対定量に長けたデジタルPCRを用いて解析する。

これらの研究の結果、最終的には甲状腺濾胞性腫瘍の術前鑑別診断法の確立が期待される。その結果、現在広く行われている濾胞腺腫の手術を回避することが可能となり、患者のQOLに寄与するだけでなく、医療経済的にも意義を持つ。また、濾胞癌では術前診断での浸潤型に応じて術式を甲状腺葉峡切除あるいは全摘と決定する個別化医療が可能となり、その医学的意義は大きいと考える。



ctDNA 広汎浸潤型>微小浸潤型>濾胞腺腫

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	宮内 昭 (Miyachi Akira)	医療法人神甲会隈病院・院長	