

# 論文内容要旨

## 論文題目

膵癌 EUS-FNA サンプルより樹立した Organoid の臨床応用に向けた検討

責任講座：内科学第二講座

氏名：角田 道彦

### 【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】膵癌は予後不良な癌とされ、特に切除不能な進行癌については現時点で有効な治療薬の開発に至っていない。癌患者の遺伝子解析を行い最適な治療方法を選択する Precision Medicine の取り組みも進められているが、膵癌においては安定した腫瘍組織検体の確保が困難な実情がある。採取した癌細胞を三次元条件下で培養する organoid 培養技術は、臨床検体を元として生体に近い環境で安定的に細胞を維持培養する技術であり、癌遺伝子研究に有用となり得る。しかし、長期培養や継代が膵癌 organoid に与える影響について詳細な検討はなされていない。

【目的】本研究では膵癌組織や膵癌 organoid 由来の DNA、並びに organoid 培地や血液検体中の cell-free DNA の遺伝子変異に関して解析を行い、organoid により得られる癌遺伝子情報の安定性や研究利用における有用性について検討を行った。

【方法】当院で膵癌に対し超音波内視鏡下吸引生検(EUS-FNA)を行った症例の生検検体、並びに膵切除症例の正常膵組織を用いて organoid 培養を行った。継代早期および後期の organoid と、由来組織のホルマリン固定標本から DNA を抽出し、Comprehensive cancer gene panel で評価可能な 400 遺伝子について次世代シーケンサーにより変異解析を行った。

【結果】organoid より抽出した DNA は、組織標本由来の DNA と比べ DNA の分解が少なく、解析検体としての質が良好であった。膵癌 organoid は FFPE 検体と高い variant の一致率を示し (Simpson score 0.73~0.90)、同様に継代早期・後期の膵癌 organoid の variant は維持された (Simpson score 0.86~0.92)。一方、血清中の cell-freeDNA については膵癌 organoid3 検体ともに確認された KRAS 変異は認められなかった。organoid 培地中の cell-freeDNA は organoid と一致した variant を有するものの、培地中 cell-free DNA にのみに発現する variant を認めた。

【結論】 EUS-FNA 検体から樹立した organoid は、膵癌の遺伝子解析における質的・量的な問題点を解消し、臨床応用における有用な検体になり得る。

2022 年 1 月 6 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 角田 道彦

論文題目：膵癌 EUS-FNA サンプルより樹立した Organoid の臨床応用に向けた検討

審査委員：主審査委員

元井 冬彦



副審査委員

吉岡 孝志



副審査委員

浅尾 裕信



審査終了日： 2022 年 1 月 5 日

### 【 論文審査結果要旨 】

癌遺伝子解析による Precision Medicine が進められているが、膵癌では検体確保が困難である。申請者らは、膵癌生検検体を用いて膵癌 Organoid を樹立し、遺伝子情報の解析を行った。膵癌 Organoid は FEPE 検体との variant 一致率も高く、継代を重ねても由来組織と同種の変異を保持しており、安定的に利用可能な material であると結論されている。膵癌研究に応用可能であることを示した研究で学位論文に値する研究であると思われるが、以下の点を考慮して修正することが望ましい。

結論：条件付きで学位論文に値する

1. Organoid の樹立に関して、癌組織由来の組織から正常組織を除去する方法について、EGF、FGF10、IGF1 を添加する理由を含めて説明する。
2. 膵臓がんの組織染色における CK19、p53 の意味についての説明を加えること。切除検体の所見が並べて示されるとなお良い。
3. DIN や cfDNA% について説明できるようにしておく。
4. Figure 1 を参照する本文該当部分に記載する。
5. Figure 3 Legend をきちんと記載する。
6. 培地中に Organoid とは異なる variant が出現する理由について考察する。
7. がん幹細胞についての考察を加える。
8. Organoid の薬剤感受性評価についてはデータがないので緒言でなく考察で触れる。
9. Liquid biopsy の欠点として K-Ras variant を検出できなかった点を挙げているが、あくまで今回の少数例での検討結果である。Liquid biopsy は検体入手の容易な点など利点も多いので、一般論として利点を記載した上で今回の結果から得られた懸念をわかりやすく説明すべきである。
10. limitation でサンプルが少ないことが挙げられましたが、どのくらいあれば良いか考察する。

(1, 200字以内)