

Precise Detection of IDH1/2 and BRAF Hotspot Mutations in Clinical Glioma Tissues by a Differential Calculus Analysis of High-Resolution Melting Data

波多江, 龍亮

<https://doi.org/10.15017/1789433>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

(別紙様式2)

氏名	波多江 龍亮			
論文名	Precise Detection of <i>IDH1/2</i> and <i>BRAF</i> Hotspot Mutations in Clinical Glioma Tissues by a Differential Calculus Analysis of High-Resolution Melting Data			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	吉良 潤一
	副査	九州大学	教授	三浦 岳
	副査	九州大学	教授	岩城 徹

論文審査の結果の要旨

神経膠腫では最近、特異的な遺伝子点変異の発見が相次ぎ、診断の確定や治療感受性の判定に有用であることが示され、その解析が臨床現場において必須となりつつある。しかし、従来の遺伝子解析法は煩雑で、臨床への導入は困難であるため、新規の遺伝子解析法として、リアルタイムPCRのプラットフォームを用いたHigh Resolution Melting (HRM)法が開発された。迅速かつ簡便な変異解析法で、臨床導入に適しているものの、従来の解析アルゴリズムは再現性が低く、明確な判定基準がないといった課題がある。本論文では、HRMの新規解析アルゴリズムを開発している。対象は、外科手術で摘出した腫瘍凍結サンプルを用い、IDH1R132とIDH2R172の変異に対しては、192例の神経膠腫、BRAFV600E変異に対しては異なる51例の脳腫瘍サンプルで解析している。従来の解析アルゴリズムでは、まず融解曲線のシグナル強度に補正を加え、次に遺伝子変異による変化を、コントロールである野生型の曲線との差分をプロット (difference plot) することで検出し、変異の判定に用いる。本研究では、融解曲線に対し2回の微分を加えた。この2回微分の結果をプロットした曲線 (negative second derivative plot) では、変異による融解曲線の変化が増幅し、正常波形との比較を用いずに、明確な視覚的判定が出来るようになった。判定を客観的にするために、融解曲線の変化の程度を数値化したHRM-MIという指標を開発している。このHRM-MIでは、duplicateの実験の判定結果が完全に一致し、再現性が100%となった。また、ダイレクトシーケンス法では検出できなかったIDH1R132変異を検出し得た症例が3例あった。この新規解析法は、IDH1R132、IDH2R172およびBRAFV600E変異の各々においても有用性が確認され、腫瘍型や遺伝子変異の差異に関わらず、普遍的に有用であることが示された。

以上の成績はこの方面の研究に知見を加えた意義あるものと考えられる。本論文についての試験はまず論文の研究目的、方法、実験成績などについての説明を求め、各委員より専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項について種々質問を行なったがいずれについても適切な回答を得た。

よって調査委員合議の結果、試験は合格とした。