

氏名	渡邊元嗣
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博 甲第5472号
学位授与の日付	平成29年3月24日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	Estimation of age-related DNA degradation from formalin-fixed and paraffin-embedded tissue according to the extraction methods (ホルマリン固定パラフィン包埋組織からの抽出法毎の経年変化に伴うDNA分解の評価)
論文審査委員	教授 大内淑代 教授 大橋俊孝 准教授 岡野光博

学位論文内容の要旨

ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織からDNAを抽出する技術は発展したが、FFPE組織中のDNAは、長期保存により損傷を受けることが知られている。本研究において、我々はQIAamp DNA FFPE組織キット (QIA) とWaxFree DNA抽出キット (WAX) の2つのFFPE組織DNA抽出方法を用いて、DNAの質・純度・収率を評価した。

我々の施設で外科手術を行った肺腺癌患者25人から得られた検体を、0.5・3・6・9・12年の間、FFPE組織として室温に保存したものをを用いて検討を行った。抽出したDNAは、紫外線吸収度測定・蛍光強度測定・qPCRを用いて定量化した。DNAの質は260nmと280nmの吸収度比 (A_{260}/A_{280}) とqPCRのQスコアによって評価した。

結果、DNAの収率はWAXを使った方がQIAを用いたよりも高かったが、DNAの断片化や不純物の混在も多かった。QIAとWAXのどちらの方法で抽出しても経年によってDNAの断片化が見られたが、得られるDNAの絶対量および純度の経年による減少は見られなかった。目的に応じてQIAとWAXどちらの方法も使用できるものの、長期保存でDNAの断片化を生じるため、DNA長さによる使用の制限があると考えられる。

論文審査結果の要旨

本研究は、異なる2つの方法で、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)ヒト腫瘍組織からDNAを抽出し、DNA収量、質、純度、保存期間にともなうDNA断片化について評価し、レジジン樹脂法はDNA収量に優れ、シリカ膜吸着法はDNAの質と純度に勝ることを明らかにしたものである。本研究により解明された、抽出法によらず12年までの常温保存により、DNA断片が約300塩基対より小さく断片化していること、シリカ法DNA断片長がレジジン法よりやや大きい傾向にあったとの知見は、今後、塩基配列決定法の進歩にとまない用いるDNA抽出法の選択において重要であり価値ある業績であると認める。さらには、臨床の現場で保存されたFFPEブロック由来のDNAには経年変化が伴い、現時点では次世代シーケンシング解析には不向きであるが、特定の遺伝子変異の検出は可能であることが示され、優れた研究であり、今後の一層の研究展開が大いに期待される。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。