

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 674 号	学位申請者	森 和樹
審査委員	主査	中村 典史	学位 博士 (歯学)
	副査	田中 達朗	副査 西村 正宏
	副査	後藤 哲哉	副査 嶋 香織
<p>主査および副査の5名は、令和4年8月25日、学位申請者に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) Training set の40例は最初から決まっていたのか。サンプル数は妥当か。 (回答) Training set のサンプル数は、最初決まっておらず研究期間内で可及的に集めた。しかしながら、ROC分析のAUCをもとにサンプル数の統計学的検定をかけ、サンプル数の妥当性を確認した。また、同様の手法で Test set のサンプル数も決定し収集した。</p> <p>質問2) 細胞診と比較して粘膜全体の細胞が得られるとあるが、本検査は病変の大きさの影響は受けないのか。 (回答) 病変の大きさには影響を受けず、舌根部といった含嗽で拾いきれない場所でなければ検出可能。</p> <p>質問3) 将来的に上皮異形成、上皮過形成を鑑別することは可能か。 (回答) 今回の検討では有意差を認めなかった。サンプル数を増やしながら今後検討は必要。</p> <p>質問4) 大腸癌では高メチル化は勿論のこと、低メチル化の報告もあるが、今回は高メチル化のみの報告か。 (回答) 今回は癌抑制遺伝子にのみターゲットを絞っているため、高メチル化の報告となった。遺伝子全体での評価では低メチル化も考えられたため、検討の対象と考える。</p> <p>質問5) 口腔癌で、死亡率が低下しているのに罹患患者数と死亡者数が増えている原因は何か。 (回答) 社会的に口腔癌に対する認識が広まったことで、早期介入により死亡率が低下していると考えられる。罹患患者数や死亡者数が増えているのは高齢化によるものだと考えられる。</p> <p>質問6) 含嗽の方法で結果は左右されるか。 (回答) 患者には1分間頰を膨らませるような形で含嗽していただいた。高齢者で含嗽が難しい場合は、十分なDNA量が採取できず、サンプルの適正についてはDNA量を測りクオリティチェックを行った。</p> <p>質問7) 老化とミトコンドリアDNAとの関係は知られているが、今回ミトコンドリアDNAの修飾は調べたか。 (回答) 今回は細胞の核内のDNAをターゲットとしており、ミトコンドリアDNAは調査していない。</p> <p>質問8) カットオフ値はどのように設定したか。数値が高い患者に特徴はあったか。 ROC解析で感度、特異度のバランスの取れた値をカットオフ値として設定した。数値の度合いで病変の進行度が異なる等の特徴は認めなかった。</p> <p>質問9) 含嗽液に癌細胞が遊離してくることは、予備実験をされた結果か。 (回答) 先行研究で、腫瘍サンプルのDNAのメチル化と、含嗽液のDNAメチル化が相関する報告があり、含嗽液に腫瘍のDNAが遊離してくるものと考えている。</p> <p>質問10) 含嗽液検査の検査時間はどの程度か (回答) 全処理からシーケンスまでの工程で1日半を要する。</p> <p>質問11) AUCの算出方法は</p>			

最終試験の結果の要旨

(674)

(回答) 各カットオフの感度、1-特異度をプロットしていき、曲線に囲まれた面積を算出する。

質問 12) プローブの設計はどのようにしたか

(回答) 市販されたもので、メジャーな癌抑制遺伝子が含まれるものを使用した。

質問 13) CADM1 は AUC 高いけど最終的に含まれなかった理由は？単独でみると有用なのでは？

(回答) ROC 解析で他の組み合わせが有用であったが、組み合わせると他の遺伝子と相殺される結果であったためと考えられる。

質問 14) 含嗽液検査は手技的な問題はあるか。

(回答) 専門医、一般医関係なく結果は変わらないものである。

質問 15) 含嗽液検査が普及していくための障害は何か。

(回答) 検査時間が長いことが挙げられる。将来的にはチャアサイドで行える即時診断型のキットを目指しており、他のシーケンサーも含めて検討中である。

質問 16) 偽陽性、偽陰性になりやすい症例の特徴は

(回答) 広範に発赤、びらんを認めた扁平苔癬患者で高メチル化を認め、粘膜の炎症波及の程度によっては偽陽性になる可能性を考える。また、舌根部に腫瘍が存在した扁平上皮癌患者で、メチル化は検出されず陰性となったため、含嗽で拾いきれない場所に腫瘍がある場合は、偽陰性となりやすいと考える。

質問 17) 感度を上げるために遺伝子の組み合わせや、カットオフは検討した？

(回答) 遺伝子の組み合わせは客観性を重視し ROC 分析でのみ検討し、最も AUC が高いものを採用しメチル化スコアした。メチル化スコアのカットオフを下げると感度を上げることが可能なので、今後サンプルを収集していく中でカットオフは再度検討が必要と考える。

質問 18) 口腔潜在的悪性疾患の定義をどのように捉えたか。

(回答) 口腔潜在的悪性疾患には癌は含まれないが、今回臨床的に OPMDs と診断し、生検を行う患者をターゲットとした。

質問 19) 含嗽以外の方法で、病変の細胞をとって解析を行うことは検討したか。

(回答) 今回は含嗽液のみで解析を行ったが、病変をブラシで擦って細胞を採取する方法など、診断精度を上げるために検討が必要と考える。

質問 20) サンプルサイズを増やすと具体的に何が変わるのか。

(回答) メチル化スコア自体は、テストセットで統計的に実証されたものと考えているが、実用性については多くのサンプルサイズで検討が必要と考える。

以上の結果から、3名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(歯学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。