

令和元年6月17日現在

機関番号：83802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K21688

研究課題名(和文) 肺癌組織および末梢血中のEGFR変異存在比とEGFR阻害剤治療効果との関連性検討

研究課題名(英文) Examination of the relationship between EGFR mutant allele frequency and efficacy of EGFR inhibitor of tissue samples and blood samples in patient with lung cancer

研究代表者

小野 哲 (Akira, Ono)

静岡県立静岡がんセンター(研究所)・その他部局等・研究員

研究者番号：50441027

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)：肺癌の組織検体、および末梢血検体を用いて超高感度EGFR遺伝子変異測定系の構築を行った。この結果はEGFR遺伝子変異の定量化をより低侵襲な検査で実現するうえで意義のあることであり、今後のゲノム医療の発展に伴い、EGFR遺伝子変異や他の体細胞遺伝子変異でのallele frequencyの評価にもとづく治療方針の選択や薬物の効果を評価する際に重要であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

侵襲性の低い血液検体での遺伝子検査方法の確立が、今後のがんゲノム医療の発展に寄与し得ると考える。

研究成果の概要(英文)：Ultrasensitive EGFR gene mutation measuring system was constructed using tissue samples and blood samples in non-small cell lung cancer patients. This result is significant in realizing quantification of EGFR gene mutation with non-invasive method. With development of future genome medicine, we considered it important in evaluating choice of treatment policy and efficacy of treatment based on the evaluation of allele frequency in EGFR gene mutation and other somatic gene mutations.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：肺癌 リキッドバイオプシー allele frequency

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Allele frequency は腫瘍内不均一性も反映し EGFR-TKI 治療効果を判別する要因として考えられていたが、それを定量的にとらえ、EGFR-TKI の治療効果との明確な関連性を示した報告はない。そこで、申請者は、腫瘍組織内での EGFR 活性化変異の相対的多寡が腫瘍内不均一性を反映する一つの定量可能な指標と考え、EGFR MAF と EGFR-TKI の治療効果との関連性に着目し、Shizuoka Lung Cancer Mutation Study のデータを用い、後ろ向きに検討を行った。結果は、腫瘍組織内における存在比(maf) 9%をカットオフ値にすることで、EGFR-TKI の治療効果により EGFR 遺伝子変異陽性症例をさらに層別し得ることを示した。この研究結果から、肺癌組織中の EGFR MAF と EGFR-TKI の治療効果との相関について前向き臨床研究により検討し、その結果に基づき、EGFR 活性化変異陽性症例をさらに層別化するための EGFR MAF のカットオフ値の設定を行う本研究を着想するに至った。また、この層別化をより低侵襲な検査により行うためには、デジタル PCR などの超高感度検出法を用いた末梢血中の末梢血中循環腫瘍 DNA(ctDNA)における EGFR MAF のカットオフ値を設定することが必要である。申請者の報告したこれまでの研究から、デジタル PCR を用いて末梢血の ctDNA から EGFR 活性化変異(L858R)を測定し、EGFR-TKI 治療前に採取した 10 例中 4 例(40%)で EGFR L858R 変異を認めた。また、EGFR-TKI 治療後に採取した 6 例中 4 例(67%)では L858R は認めなかった[6]。これは、末梢血中での EGFR 活性化変異の出現感度の低さや EGFR-TKI 治療による EGFR 活性化変異の消失の可能性も示唆される。しかしながら、同一症例の治療前後の測定でなく、測定数が寡少、さらには測定タイミングが不統一であることなどの問題点が存在する。そこで、本研究では並行して ctDNA における EGFR MAF と EGFR-TKI の治療効果との相関について検討することで、同一腫瘍組織にて設定した EGFR MAF のカットオフ値に相当する、ctDNA における EGFR MAF のカットオフ値を定める。そしてこの訓練コホートで設定された、腫瘍組織および ctDNA における両カットオフ値の妥当性について、新たな検証コホートによる評価を行うこととした。

### 2. 研究の目的

肺腺癌組織および末梢血中循環腫瘍 DNA(ctDNA)における EGFR MAF を定量し、EGFR-TKI の治療効果との相関について検討する前向き臨床研究を行う。それにより、EGFR-TKI 治療の効果に基づき EGFR 活性化変異陽性集団をさらに層別するための EGFR MAF のカットオフ値を、腫瘍組織および ctDNA を用いて定めることを目的とする。ctDNA を用いた EGFR MAF の検討は、この層別化をより低侵襲な検査で実現する上で必要である。訓練コホートで定めた両カットオフ値の妥当性については、検証コホートにより評価を行うことで、日常臨床で一般化するための根拠となるデータとすること。

### 3. 研究の方法

非小細胞肺癌組織検体及び末梢血検体から超高感度法を用いて EGFR MAF を測定し、組織内と末梢血中の EGFR MAF の相関並びに EGFR-TKI 治療の効果判別のためのカットオフ値の検討を行う。

1. 訓練コホートでは、下記の選択基準で適格性が確認された症例で、本人から同意が得られた症例を本研究に登録し、EGFR-TKI 治療前の検体を採取する。組織検体からはパイロシークエンス法及び デジタル PCR にて EGFR MAF を測定し末梢血検体からはデジタル PCR で EGFR MAF を測定する。測定した組織検体及び末梢血検体での EGFR MAF を用いて EGFR-TKI 治療の効果(奏効、PFS)を判別する EGFR MAF のカットオフ値の検討を行う。
2. EGFR-TKI 治療に耐性後再発時には再生検にて組織検体を採取、末梢血検体と共にデジタル PCR にて EGFR MAF を測定する。EGFR-TKI 獲得耐性後の EGFR MAF が再発後の治療における効果予測因子としての可能性も検討する。
3. 訓練コホートにおいて設定された EGFR MAF のカットオフ値を用い、検証コホートにおける EGFR-TKI 治療効果の層別を評価・確認する。

### 4. 研究成果

肺癌の組織検体、および末梢血検体を用いて超高感度 EGFR 遺伝子変異測定系の構築を行った。この結果は EGFR 遺伝子変異の定量化をより低侵襲な検査で実現するうえで意義のあることであり、今後のゲノム医療の発展に伴い、EGFR 遺伝子変異や他の体細胞遺伝子変異での allele frequency の評価にもとづく治療方針の選択や薬物の効果を評価する際に重要であると考えられる。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

Lung Cancer 2017;106:138-144

### 題名

Plasma epidermal growth factor receptor mutation testing with a chip-based digital

PCR system in patients with advanced non-small cell lung cancer

発表者名

Norimitsu Kasahara, Hirotsugu Kenmotsu, Masakuni Serizawa, Rina Umehara, Akira Ono, Yasushi Hisamatsu, Kazushige Wakuda, Shota Omori, Kazuhisa Nakashima, Tetsuhiko Taira, Tateaki Naito, Haruyasu Murakami, Yasuhiro Koh, Keita Mori, Masahiro Endo, Takashi Nakajima, Masanobu Yamada, Masatoshi Kusahara, Toshiaki Takahashi

〔学会発表〕(計1件)

American Association for Cancer Research Annual Meeting 2016

題名

Plasma epidermal growth factor receptor mutation (EGFR) testing in advanced non-small-cell lung cancer patients harboring EGFR mutations by chip-based digital PCR system

発表者名

Norimitsu Kasahara, Hirotsugu Kenmotsu, Masakuni Serizawa, Rina Umehara, Akira Ono, Kazushige Wakuda, Shota Omori, Kazuhisa Nakashima, Tetsuhiko Taira, Tateaki Naito, Haruyasu Murakami, Noriaki Sunaga, Yasuhiro Koh, Keita Mori, Masahiro Endo, Takashi Nakajima, Masanobu Yamada, Masatoshi Kusahara, Toshiaki Takahashi.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等なし

## 6. 研究組織

(1)研究分担者なし

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者なし

研究協力者氏名:

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。