

令和 3 年 8 月 27 日現在

機関番号：83904

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15314

研究課題名（和文）循環腫瘍DNAを応用した膵癌術前治療の新規効果判定法とサーベイランス法の開発

研究課題名（英文）Development of a new predictive marker using circulating tumor DNA in patients with pancreatic cancer receiving neoadjuvant chemotherapy

研究代表者

末永 雅也（Suenaga, Masaya）

独立行政法人国立病院機構（名古屋医療センター臨床研究センター）・その他部局等・外科医長、臨床研究センター血液・腫瘍研究部 病因・診断研究室長

研究者番号：50801627

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）：デジタルPCRを用いて膵癌患者の術前治療前後の循環腫瘍DNAを測定し、治療効果予測への応用を目指した。

膵癌患者13例の術前治療前後の血液検体を用い、血漿中から循環腫瘍DNAが38%の症例で同定されることを示し、遺伝子変異濃度（allele frequency; AF）の変化が画像評価における効果判定および摘出標本の組織学的効果判定と関連することを示した。

膵癌患者10例に対して新規治療薬を投与し、経時的な血液検体における循環腫瘍DNAを測定した。8例で治療経過中に循環腫瘍DNAが検出され、組織学的完全奏効の得られた1例を含む部分奏効の3例では、そのAFの変化と治療効果の関連性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では膵癌の術前治療患者と新薬を用いた化学療法患者の2つのコホートにおいて、デジタルPCRを用いた循環腫瘍DNAの遺伝子変異濃度が有望な効果予測マーカーであることを示した。膵癌患者におけるKRAS遺伝子変異は95%以上の原発巣で認めることから、そのhot spot mutationを網羅する本法による循環腫瘍DNAの測定では直接的に腫瘍由来の遺伝子変異の測定が可能であり、臨床応用が期待される。一方で、本研究では最も高感度な測定手法の一つであるデジタルPCRを用いたが、循環腫瘍DNAの同定率は半数に満たず、input DNAの再考や測定手法のさらなる発展が必要と考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, our aim was to develop a new predictive marker using circulating tumor DNA in patients with pancreatic cancer receiving neoadjuvant chemotherapy. In our study with 13 pancreatic cancer patients receiving neoadjuvant therapy, circulating tumor DNA (ctDNA) was detected in 38% of cases and the change of the allele frequency (AF) was associated with the imaging test evaluation and the histological evaluation. In our study with 10 pancreatic cancer patients receiving chemotherapy with a newly developed drug, ctDNA was detected in any of the serial samples in the 8 cases. In addition, 3 cases with partial response, including 1 cases with pathological complete response, the change of AF was associated with the therapeutic effect.

研究分野：膵癌

キーワード：循環腫瘍DNA 膵癌 術前治療 効果予測 バイオマーカー

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究開始当時、担癌患者の体液から非侵襲的に腫瘍の病勢をモニタリングするリキッドバイオプシーが注目され多くの施設が様々な手法でリキッドバイオプシーの研究を計画していた。本研究で用いた循環腫瘍 DNA だけでなく、循環腫瘍細胞、マイクロ RNA、エクソソームといった方法が提案され、国内外で注目されている領域であるが、精度や費用の問題があり臨床応用への課題は多い (Wan et al. 2017 Nat Rev Cancer)。また、それらの多くは予後予測マーカーとしての応用であり (Dawson et al. 2013 N Engl J Med, Pietrasz et al. 2017 Clin Can Res)、本研究の中心である膵癌術前治療の効果判定に応用した研究は皆無であった。

### 2. 研究の目的

デジタル PCR を用いて膵癌患者の術前治療前後の循環腫瘍 DNA を測定し、治療効果予測への応用を目指す。

### 3. 研究の方法

膵癌患者における治療前後または経時的な血液検体を採取し、循環セルフリーDNA を抽出する。循環セルフリーDNA 検体から、KRAS hot spot mutation を網羅するプライマー・プローベセットを用いたデジタルPCRによって循環腫瘍DNA を測定し、その遺伝子変異濃度 (allele frequency; AF) の変化が治療効果予測のマーカーとして有用かを検討する。

### 4. 研究成果

[研究 1] 膵癌患者 13 例の血液検体を用いた研究では、血漿中から循環腫瘍 DNA が 38% の症例で同定されることを示し、遺伝子変異濃度 (allele frequency; AF) の変化が画像評価における効果判定と関連すること、摘出標本の組織学的効果判定と関連することを示した (図 1)。

(図 1 術前治療前後の AF 変化)

#	Resectability	RECIST	Pre Size (mm)	Post Size (mm)	Pre CA19-9	Post CA19-9	Pre ctDNA AF (%)	Post ctDNA AF (%)	R	ypStage	Historical response
1	UR, SMA	PR	35	22	188	9	0.53	0	0	IA	4
2	UR, SMA	PR	40	13	52	13	0.03	0	0	IIA	2
3	BR, PV	SD	20	18	115	68	0	0	1	IIB	1a
4	BR, RHA	PR	34	22	7	7	0.32	0	0	IIA	3
5	UR, P	SD	25	29	960	53	0	0.04	0	IIB	2
6	UR, J1A&V	SD	25	23	1018	50	0	0	0	IA	3
7	UR, CA&SMA	PR	41	21	7320	8	0.07	0	0	IIA	3
8	BR, CHA	SD	22	19	61	30	0	0.11	1	IIB	1a
9	BR, PV	SD	27	23	1	1	0	0.06	0	IIA	2
10	BR, PV	PR	27	15	1250	18	0	0	0	IIB	2
11	BR, PV	SD	38	38	3100	1500	0	0	0	IIB	1a
12	BR, PV	SD	24	22	67	42	0.05	0.27	1	IIB	2
13	BR, PV	SD	21	16	19	17	0	0.08	0	IA	1b

[研究 2] 共同研究機関で施行された新規治療薬の臨床研究の検体を用いて付随研究をおこなった。膵癌患者 10 例に対して新規治療薬を投与し、その治療経過中の経時的な血液検体における循環腫瘍 DNA を測定した。本コホートの治療開始後の無増悪生存期間、全生存期間の中央値は 6.3 か月/15.5 か月、RECIST における部分奏功/安定/進行はそれぞれ 3 例/4 例/2 例 (1 例は評価不能) で、部分奏功の 1 例には手術を施行し組織学的完全奏功を確認した (図 2)。循環腫瘍 DNA の経時的な検討では治療前検出例は 1 例のみであったが、8 例で治療経過中に循環腫瘍 DNA が検出された。部分奏功の 3 例では spike 様の AF 上昇の後に AF が低下しており、治療効果により腫瘍から循環腫瘍 DNA が放出されるメカニズムが推察された (図 3)。一方で、進行の 1 例では経過中全般に高い AF であり、病勢を反映していると考えられた。循環腫瘍 DNA の検出の有無や様々な AF の cut-off 値により循環腫瘍 DNA マーカーの予後予測能を検討したが、本コホートでは有意な結果は得られなかった。

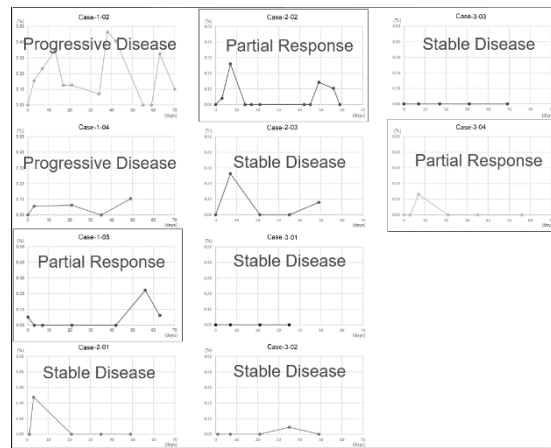
2 つのコホートを用いた循環腫瘍 DNA の研究より、治療前後と治療経過中の AF の変化による循環腫瘍 DNA マーカーは一定の治療効果を反映する可能性が示唆された。一方で、本研究デザインにおける検出率は臨床応用に向けては感度が十分とは言えず、検体量や検出法のさらなる改良が必要と考えられた。

様 式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

（図 2 研究 2 の患者背景）

X + Gemcitabine + Erlotinib	
Design	
Sample size	10
Design	Single center, open label
Population	Non-resectable locally advanced pancreatic cancer
Prior therapy	100%
Results: Safety	
Drug related TEAEs Grade ≥3	0%
Results: Efficacy	
ORR	33% (3/9)
Disease control <sup>1</sup>	78%
Median PFS	6.3 mo
Median OS	15.5 mo

（図 3 治療中の経時的 AF 変化）



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 末永雅也
2. 発表標題 デジタルPCRを応用した膵癌患者におけるリキッドバイオプシー
3. 学会等名 第29回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------