

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03856

研究課題名（和文）リキッドバイオプシーによる口腔がんの免疫チェックポイント阻害薬効果予測法の確立

研究課題名（英文）Establishment of a method for predicting the efficacy of immune checkpoint inhibitors in oral cancer by liquid biopsy.

研究代表者

本田 一文（Honda, Kazufumi）

日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授

研究者番号：10260936

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：末梢循環腫瘍細胞（CTC）表面に発現する上皮系マーカーを利用せず微小流路通過による遠心力と揚力を利用してCTCsを分取する要素技術を開発し、分取したCTCsから次世代シーケンスを用いて遺伝子変異プロファイル技術を確立した。また、CTCsを分取した同一患者からctDNAを頭頸部がん、食道がん、胃がん、大腸がんから採取して、次世代シーケンスを行い、CTCsとctDNAの遺伝子変異プロファイルをマージさせることで、特異度を下げることなく感度を上昇させることを報告した。免疫チェックポイント治療を受けた口腔がん患者のCTCsとctDNAの遺伝子変異プロファイルを解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんは自身の生存をかけて治療圧力に抵抗しその個性を進化させる。進化した個性を適時・適格に捉えるには、腫瘍細胞が持つ分子生物学的や遺伝学的プロファイルを頻回に検査し、最適な治療法を提示するバイオマーカーの開発が急務である。腫瘍本体からの分子プロファイルには、手術検体や生検検体の採取が必要であるが、頻回の検査は患者負担が高いため、採血によるCTCsやctDNAの遺伝子変異をプロファイルする方法の開発が求められている。今回の研究からCTCsやctDNAを用いて免疫チェックポイント療法の効果を予測するバイオマーカーを探索する方法を確立することができた。次世代シーケンス結果からその同定を期待したい。

研究成果の概要（英文）：We developed an elemental technology for preparative isolation of circulating tumor cells (CTCs) using centrifugal and lift forces caused by passage through microfluidic channels without using epithelial markers expressed on the CTCs cell surface, and established a gene mutation profiling technology using next-generation sequencing from the preparative CTCs. We also reported that circulating tumor DNA (ctDNA) was collected from head and neck cancer, esophageal cancer, gastric cancer, and colorectal cancer from the same patient from whom CTCs were aliquoted, and next-generation sequencing was performed to merge the genetic mutation profiles of CTCs and ctDNA to increase detection sensitivity without reducing specificity.

We investigated the genomic alteration profiles of CTCs and ctDNA that were obtained from the oral cancer patients who underwent immunocheck-point therapies.

研究分野：バイオマーカー探索、腫瘍生物学

キーワード：免疫チェックポイント治療 リキッドバイオプシー解析 末梢循環腫瘍細胞 末梢循環腫瘍DNA 次世代シーケンス

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がんは自身の生存をかけて治療圧力に抵抗し、その個性を進化させる。進化した個性を適時・適格に捉えるには、腫瘍細胞が持つ分子生物学的や遺伝学的プロファイルを頻回に検査し、最適な治療法を提示するバイオマーカーの開発が急務である。腫瘍本体からの分子プロファイルには、手術検体や生検検体の採取が必要であるが、頻回の検査は患者負担が高いため、採血による末梢循環腫瘍細胞 (circulating tumor cells: CTCs) や末梢循環腫瘍 DNA (circulating tumor DNA: ctDNA) の遺伝子変異をプロファイルする方法の開発が求められている。

### 2. 研究の目的

治療圧力による腫瘍進化を想定した頻回検査を可能にするリキッドバイオプシー技術を開発し、口腔がん免疫チェックポイント阻害療法に対する精密医療を確立する。

### 3. 研究の方法

医師主導臨床研究にて、ニボルマブ投与する再発または遠隔転移頭頸部がんを登録し、末梢血から CTCs と ctDNA を分離する。

上皮間葉転換 (epithelial mesenchymal transition, EMT) を惹起した CTCs の単離のために、微小流路分離技術 (microfluidic separation tool, MST) に関して要素技術を開発する。

ctDNA の分離は、研究登録から 3 時間以内に実施する。

単離された DNA を、次世代シーケンス技術を用いて遺伝子変異プロファイルを取得する。

### 4. 研究成果

末梢循環腫瘍細胞 (CTC) 表面に発現する上皮系マーカーを利用せず微小流路通過による遠心力と揚力を利用して CTCs を分取する要素技術を開発し、分取した CTCs から次世代シーケンスを用いて遺伝子変異プロファイル技術を確立した。また、CTCs を分取した同一患者から ctDNA を頭頸部がん、食道がん、胃がん、大腸がんから採取して、次世代シーケンスを行い、CTCs と ctDNA の遺伝子変異プロファイルをマージさせることで、特異度を下げることなく感度を上昇させることを報告した。免疫チェックポイント治療を受けた口腔がん患者の CTCs と ctDNA の遺伝子変異プロファイルを解析した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Honda Kazufumi, Hishiki Takako, Yamamoto Sohei, Suematsu Makoto	4. 巻 41
2. 論文標題 On-tissue polysulfide visualization by surface-enhanced Raman spectroscopy benefits patients with ovarian cancer to predict post-operative chemosensitivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Redox Biology	6. 最初と最後の頁 101926 ~ 101926
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.redox.2021.101926	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 MENG XUE, MATSUMOTO FUMIHIKO, MORI TAISUKE, MIURA NAMI, INO YOSHINORI, ONIDANI KAORU, KOBAYASHI KENYA, MATSUZAKI YUSUKE, YOSHIMOTO SEIICHI, IKEDA KATSUHISA, HONDA KAZUFUMI	4. 巻 41
2. 論文標題 BP180 Is a Prognostic Factor in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1089 ~ 1099
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancer.14867	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sato Yu, Kobayashi Takashi, Nishiumi Shin, Okada Akihiko, Fujita Tsuyoshi, Sanuki Tsuyoshi, Kobayashi Masao, Asahara Masakyo, Adachi Masayasu, Sakai Arata, Shiomi Hideyuki, Masuda Atsuhiko, Yoshida Masaru, Takeuchi Keiko, Kodama Yuzo, Kutsumi Hiromu, Nagashima Kengo, Honda Kazufumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Prospective Study Using Plasma Apolipoprotein A2-Isoforms to Screen for High-Risk Status of Pancreatic Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2625 ~ 2625
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers12092625	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yokose Takahiro, Kabe Yasuaki, Nakamura Yuki, Shinoda Masahiro, Yagi Hiroshi, Abe Yuta, Oshima Go, Hori Shutaro, Nakano Yutaka, Honda Kazufumi, Itonaga Makoto, Ono Masayuki, Minegishi Naoko, Koshiba Seizo, Yamamoto Masayuki, Kuno Atsushi, Suematsu Makoto, Kitagawa Yuko	4. 巻 12
2. 論文標題 O-Glycan-Altered Extracellular Vesicles: A Specific Serum Marker Elevated in Pancreatic Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2469 ~ 2469
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers12092469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kihara Tomomi, Yamagishi Kazumasa, Honda Kazufumi, Ikeda Ai, Yatsuya Hiroshi, Saito Isao, Kokubo Yoshihiro, Yamaji Taiki, Shimazu Taichi, Sawada Norie, Iwasaki Motoki, Iso Hiroyasu, Tsugane Shoichiro, for the JPHC Study Group	4. 巻 28
2. 論文標題 Apolipoprotein A2 Isoforms in Relation to the Risk of Myocardial Infarction: A Nested Case-Control Analysis in the JPHC Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 483 ~ 490
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.56218	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Shingo, Honda Kazufumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Use of Biomarkers and Imaging for Early Detection of Pancreatic Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1965 ~ 1965
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12071965	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Aoki Masahiko, Shoji Hirokazu, Kashiro Ayumi, Takeuchi Keiko, Shimizu Yoshihiro, Honda Kazufumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Prospects for Comprehensive Analyses of Circulating Tumor Cells in Tumor Biology	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1135 ~ 1135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12051135	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugano Teppei, Yoshida Masayuki, Masuda Mari, Ono Makiko, Tamura Kenji, Kinoshita Takayuki, Tsuda Hitoshi, Honda Kazufumi, Gemma Akihiko, Yamada Tesshi	4. 巻 122
2. 論文標題 Prognostic impact of ACTN4 gene copy number alteration in hormone receptor-positive, HER2-negative, node-negative invasive breast carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1811 ~ 1817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0821-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Shingo, Komatsu Toru, Watanabe Rikiya, Zhang Yi, Inoue Taiki, Kawaguchi Mitsuyasu, Nakagawa Hidehiko, Ueno Takaaki, Okusaka Takuji, Honda Kazufumi, Noji Hiroyuki, Urano Yasuteru	4. 巻 6
2. 論文標題 Multiplexed single-molecule enzyme activity analysis for counting disease-related proteins in biological samples	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aay0888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Shingo, Komatsu Toru, Watanabe Rikiya, Zhang Yi, Inoue Taiki, Kawaguchi Mitsuyasu, Nakagawa Hidehiko, Ueno Takaaki, Okusaka Takuji, Honda Kazufumi, Noji Hiroyuki, Urano Yasuteru	4. 巻 6
2. 論文標題 Multiplexed single-molecule enzyme activity analysis for counting disease-related proteins in biological samples	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 888 ~ 888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aay0888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Xu Xiaojun, Honda Kazufumi, Miura Nami, Hori Shutaro, Le Blanc Solange, Bergmann Frank, Gaida Matthias M., Volkmar Michael, Schimmack Simon, Hackert Thilo, Strobel Oliver, Felix Klaus	4. 巻 11
2. 論文標題 Actinin-4 splice variant - a complementary diagnostic and prognostic marker of pancreatic neuroendocrine neoplasms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2318 ~ 2328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.37503	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abe Yuichi, Hirano Hidekazu, Shoji Hirokazu, Tada Asa, Isoyama Junko, Kakudo Akemi, Gunji Daigo, Honda Kazufumi, Boku Narikazu, Adachi Jun, Tomonaga Takeshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Comprehensive characterization of the phosphoproteome of gastric cancer from endoscopic biopsy specimens	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Theranostics	6. 最初と最後の頁 2115 ~ 2129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/thno.37623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Shingo, Honda Kazufumi	4. 巻 7
2. 論文標題 CA19-9 as a therapeutic target in pancreatitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 S318 ~ S318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/atm.2019.09.161	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nambu Madoka, Masuda Takeshi, Ito Shingo, Kato Ken, Kojima Takashi, Daiko Hiroyuki, Ito Yoshinori, Honda Kazufumi, Ohtsuki Sumio	4. 巻 42
2. 論文標題 Leucine-Rich Alpha-2-Glycoprotein 1 in Serum Is a Possible Biomarker to Predict Response to Preoperative Chemoradiotherapy for Esophageal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1766 ~ 1771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b19-00395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Takatsugu, Yamazaki Hiroshi, Honda Kazufumi, Ryo Eijitsu, Kaneko Akihiro, Ota Yoshihide, Mori Taisuke	4. 巻 55(4)
2. 論文標題 Altered DNA methylation is associated with aberrant stemness gene expression in early?stage HNSCC	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 915-924
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2019.4857	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onidani Kaoru, Shoji Hirokazu, Kakizaki Takahiko, Yoshimoto Seiichi, Okaya Shinobu, Miura Nami, Sekikawa Shoichi, Furuta Koh, Lim Chwee Teck, Shibahara Takahiko, Boku Narikazu, Kato Ken, Honda Kazufumi	4. 巻 110(8)
2. 論文標題 Monitoring of cancer patients via next generation sequencing of patient derived circulating tumor cells and tumor DNA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2590-2599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14092	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Takashi, Honda Kazufumi	4. 巻 19
2. 論文標題 Trends in biomarker discoveries for the early detection and risk stratification of pancreatic cancer using omics studies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Expert Review of Molecular Diagnostics	6. 最初と最後の頁 651 ~ 654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14737159.2019.1643718	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Abouleila Yasmine, Onidani Kaoru, Ali Ahmed, Shoji Hirokazu, Kawai Takayuki, Lim Chwee Teck, Kumar Vipin, Okaya Shinobu, Kato Ken, Hiyama Eiso, Yanagida Toshio, Masujima Tsutomu, Shimizu Yoshihiro, Honda Kazufumi	4. 巻 110
2. 論文標題 Live single cell mass spectrometry reveals cancer specific metabolic profiles of circulating tumor cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 697 ~ 706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13915	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	吉本 世一 (Yoshimoto Seiichi) (00462242)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・科長  (82606)	
研究分担者	本間 義崇 (Honma Yoshitaka) (30719943)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医長  (82606)	

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
---------	---------