

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07727

研究課題名(和文) 血中遊離DNA遺伝子変異プロファイルを用いたがん患者モニタリング法の確立

研究課題名(英文) Establishment of monitoring method using cfDNA gene mutation profile in patients with malignant tumors

研究代表者

木村 英晴 (Kimura, Hideharu)

金沢大学・附属病院・講師

研究者番号：40444202

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)：進行期非小細胞肺癌患者42例から診断時および治療耐性時のcfDNAを計114検体回収しcfDNAを抽出した。回収できたcfDNAを用いて遺伝子変異プロファイルを作成した。我々は、剖検組織を用いた遺伝子変異プロファイルの解析結果について論文発表した(Koba H, Kimura H et al. Sci Rep. 2021)。論文の中で、cfDNA中には悪性腫瘍の特性を表す重要な遺伝子変異が濃縮されていること、治療経過でcfDNA中の遺伝子変異プロファイルは変化すること、を示した。これらの結果から、cfDNAは腫瘍組織と比べて、腫瘍全体の特性をより反映している可能性があることを提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

cfDNA遺伝子検査は、腫瘍組織の代替試料というだけでなく、腫瘍の特性や変動する臨床事象を捉えるために腫瘍組織より適した試料となりうることを示した。これまでにcfDNAがもつ試料としての優位性からcfDNA遺伝子変異プロファイル変化を示した研究報告はない。cfDNA遺伝子変異プロファイルの定量変化は、実用的な臨床的バイオマーカーとして有用であり、さらには新たな治療標的の同定やその治療薬の開発に結びつくことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：A total of 114 cfDNA samples at diagnosis and resistance to treatment were collected from 42 patients with advanced non-small cell lung cancer, and cfDNA was extracted. A gene mutation profile was created using the recovered cfDNA. We published a paper on the results of analysis of gene mutation mutation profiles using autopsy tissues (Koba H, Kimura H et al. Sci Rep. 2021). In the paper, it was shown that cfDNA is enriched with important gene mutations that characterize malignant tumors, and that the gene mutation profile in cfDNA changes over the course of treatment. These results suggest that cfDNA may better reflect the characteristics of the entire tumor compared to tumor tissue.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：cfDNA 非小細胞肺癌

1. 研究開始当初の背景

血中遊離 DNA (cell free DNA, cfDNA) は血液から採取され、全例から容易に繰り返し採取できる。我々は cfDNA 遺伝子検査の臨床応用に向けた研究をすすめてきた。

6例の非小細胞肺癌患者から得られた剖検組織 DNA と死亡前 cfDNA から次世代シーケンサーにて遺伝子変異プロファイルを作成し比較解析したところ、cfDNA から検出されやすい遺伝子変異は、複数病変臓器内に共通して存在し、腫瘍組織内での存在比率が高い傾向があった。

我々は、全腫瘍組織にまたがって共通して存在し腫瘍組織内での allele frequency が高い遺伝子変異は患者それぞれが持つ腫瘍の特性を形成する重要な変異であり、cfDNA は単に腫瘍組織の代替組織としての役割にとどまらずバイオマーカーとして重要な遺伝子変異プロファイルが濃縮された検体となりうるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

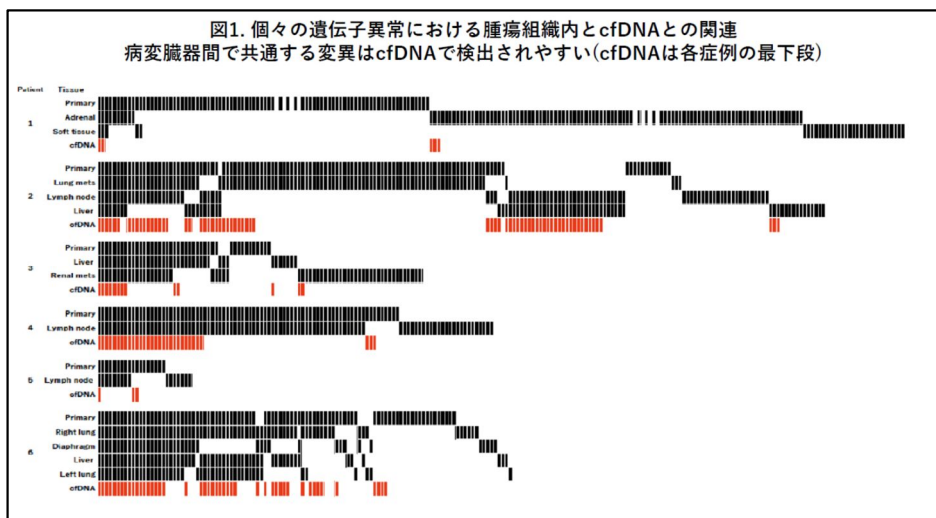
本研究の目的は、cfDNA 遺伝子変異プロファイルが臨床像の変化を表すことを示し、cfDNA 遺伝子検査を用いた悪性腫瘍患者の治療経過を予測するためのモニタリング法を確立することである。

3. 研究の方法

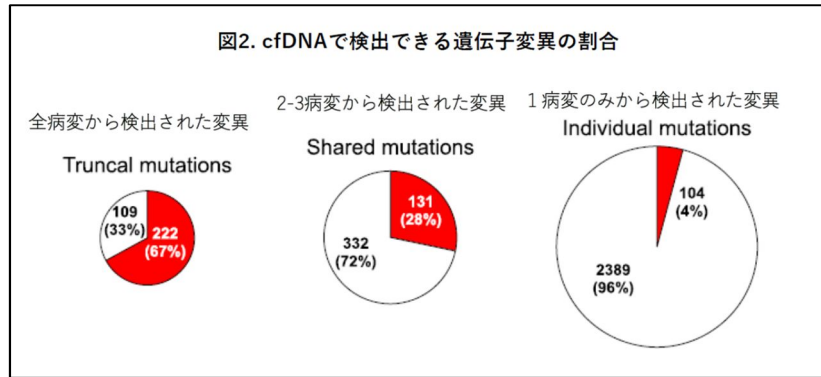
進行期非小細胞肺癌患者から、腫瘍組織と診断時・死亡前の cfDNA を収集し、Human Comprehensive Cancer Panel (QIAGEN 社) にて遺伝子変異プロファイルを作成する。腫瘍組織と cfDNA の遺伝子変異プロファイルとの比較を行い、cfDNA はヘテロ不均一性を有する悪性腫瘍患者が持つ遺伝子変異プロファイルの全体像をカバーできることを明らかにする。診断時や薬剤耐性時、剖検時の遺伝子変異プロファイルを比較することにより、遺伝子変異プロファイルが治療経過で変動することを明らかにする。治療経過中に新たに転移病変にのみ出現した遺伝子変異の中から、転移病変特異的な遺伝子変異を同定する。同定された遺伝子変異の cfDNA 中にみられる定量的な変動を評価する。

4. 研究成果

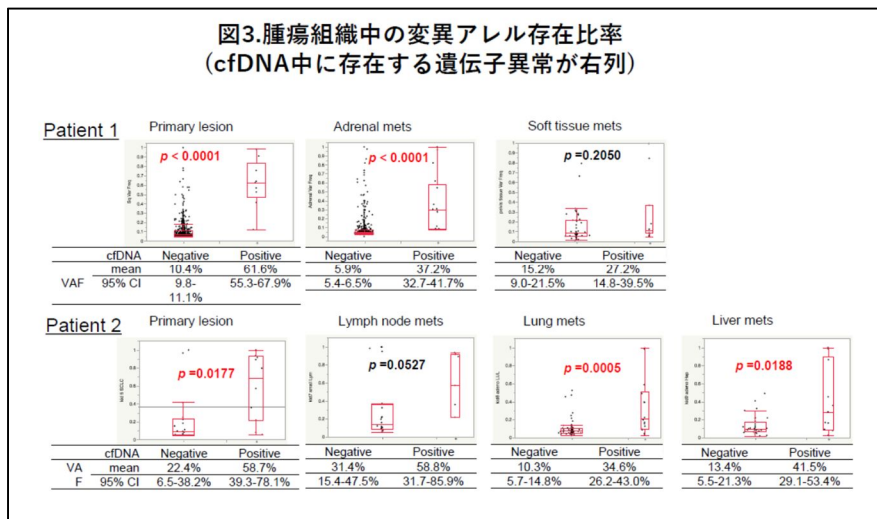
進行期非小細胞肺癌患者 42 例から診断時および治療耐性時の cfDNA を計 114 検体回収し cfDNA を抽出した。回収できた cfDNA を用いて遺伝子変異プロファイルを作成した。我々は、剖検組織を用いた遺伝子変異プロファイルの解析結果について論文発表した (Koba H, Kimura H et al. Sci Rep. 2021)。cfDNA から検出されやすい遺伝子変異は、複数病変臓器内に共通して存在し、腫瘍組織内での存在比率が高い傾向があった (図 1)。



遠隔転移を含めた全腫瘍組織内に存在する遺伝子変異 (Truncal mutations)、いくつかの腫瘍組織間内に存在する遺伝子変異 (Shared mutations)、単一腫瘍組織でのみ存在する遺伝子変異 (Individual mutations) の間で比較したところ、cfDNA から検出される割合は Truncal > Shared > Individual の順に高かった (図 2)。



また、腫瘍組織に存在する遺伝子変異の中で cfDNA から検出されるものは、検出されないものと比較して、腫瘍組織中の変異アレル存在比率(allele frequency)が明らかに高かった(図 3)。



cfDNA 中には悪性腫瘍の特性を表す重要な遺伝子変異が濃縮されていること、治療経過で cfDNA 中の遺伝子変異プロファイルは変化すること、を示した。これらの結果から、cfDNA は腫瘍組織と比べて、腫瘍全体の特性をより反映している可能性があることを提唱した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Koba Hayato, Kimura Hideharu, Yoneda Taro, Sone Takashi, Ohkura Noriyuki, Hara Johsuke, Hosomichi Kazuyoshi, Tajima Atsushi, Kasahara Kazuo	4. 巻 11
2. 論文標題 Molecular features of tumor-derived genetic alterations in circulating cell-free DNA in virtue of autopsy analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8398
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-87094-1	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 Kimura Hideharu, Sone Takashi, Araya Tomoyuki, Murata Akari, Yamamura Kenta, Ohkura Noriyuki, Hara Johsuke, Abo Miki, Kasahara Kazuo	4. 巻 10
2. 論文標題 Late-onset programmed cell death protein-1 inhibitor-induced pneumonitis after cessation of nivolumab or pembrolizumab in patients with advanced non-small cell lung cancer: a case series	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Translational Lung Cancer Research	6. 最初と最後の頁 1576 ~ 1581
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/tlcr-20-582	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 Araya Tomoyuki, Kita Toshiyuki, Matsuoka Hiroki, Sakai Tamami, Kimura Hideharu, Kasahara Kazuo	4. 巻 13
2. 論文標題 Successful Treatment of Advanced Thymic Carcinoma with Carboplatin plus nab-Paclitaxel and Maintenance Monotherapy with nab-Paclitaxel: Two Case Reports	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Case Reports in Oncology	6. 最初と最後の頁 1506 ~ 1512
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000510894	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 Koba Hayato, Yoneda Taro, Kaneda Tomoya, Ueda Tsukasa, Kimura Hideharu, Kasahara Kazuo	4. 巻 8
2. 論文標題 Severe coronavirus disease 2019 (COVID 19) pneumonia patients treated successfully with a combination of lopinavir/ritonavir plus favipiravir: Case series	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports	6. 最初と最後の頁 3143 ~ 3148
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ccr3.3358	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 Tambo Yuichi, Sone Takashi, Shibata Kazuhiko, Nishi Kouichi, Shirasaki Hiroki, Yoneda Taro, Araya Tomoyuki, Kase Kazumasa, Nishikawa Shingo, Kimura Hideharu, Kasahara Kazuo	4. 巻 21
2. 論文標題 Real-World Efficacy of First-Line Pembrolizumab in Patients With Advanced or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer and High PD-L1 Tumor Expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 e366 ~ e379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clcc.2020.02.017	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 Kimura H, Amino Y, Koba H, Tambo Y, Ohkura N, Hara J, Sone T, Kasahara K.	4. 巻 39
2. 論文標題 A case of EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma in which the T790M allele fraction was increased by repeated EGFR-TKI treatment.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Commun (Lond).	6. 最初と最後の頁 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40880-019-0413-5.	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 Kimura H, Araya T, Yoneda T, Shirasaki H, Kurokawa K, Sakai T, Koba H, Tambo Y, Nishikawa S, Sone T, Kasahara K.	4. 巻 39
2. 論文標題 Long-lasting responses after discontinuation of nivolumab treatment for reasons other than tumor progression in patients with previously treated, advanced non-small cell lung cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Commun (Lond).	6. 最初と最後の頁 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40880-019-0423-3.	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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Kimura H, Koba H, Kasahara K.
2. 発表標題 Detection of tumor-associated gene mutations in cell-free DNA of early-stage non-small cell lung cancer patients.
3. 学会等名 11th International Symposium on Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum (CNAPS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura H, Koba H, Kasahara K.
2. 発表標題 Molecular genetic characteristics of tumor-derived gene alterations in cfDNA.
3. 学会等名 11th International Symposium on Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum (CNAPS) (国際学会)
4. 発表年 2019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