

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18677

研究課題名(和文) 婦人科癌における新規血液バイオマーカーとしてのblood TMBの有用性の検討

研究課題名(英文) Utility of blood tumor mutation burden as a new biomarker in the field of gynecological cancer

研究代表者

野口 智子 (Noguchi, Tomoko)

和歌山県立医科大学・医学部・学内助教

研究者番号：80750900

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)：本研究では分子バーコード法とエラー抑制法を併用する超高感度次世代シーケンサー法であるCAPP-seqを用い、婦人科癌におけるbTMBの有用性について検討した。65例の婦人科癌の血漿検体での検討を行った結果、63例(98%)で何らかの遺伝子変異を検出できた(TP53:35%、APC:32%、KRAS:19%)。術前化学療法(NAC)を行った卵巣癌症例の中で、NAC-sensitive症例では、NAC後のbTMBは有意に減少していた。今後の婦人科癌における個別化治療戦略において、liquid biopsyによる解析が有用だと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

婦人科癌は他癌種に比べるとPrecision medicine研究が遅れている領域であり、これまでにctDNA-Liquid Biopsyによる関する研究はほとんどない。結果として新規分子標的薬・免疫チェックポイント阻害薬の臨床応用の遅れをもたらしており、進行婦人科癌の予後不良症例の治療選択肢が限られ、婦人科癌におけるPrecision medicine研究の推務となっている。本研究は新規Precision medicine治療の推進のために意義の大きな研究と考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we utilized CAPP-Seq, an ultrasensitive NGS-based liquid biopsy approach, for blood-derived ctDNA samples. We investigated comprehensive gene mutation profiling and bTMB in gynecological cancer utilizing plasma ctDNA. We examined the mutation profiles of plasma ctDNA samples obtained from 65 gynecological cancers by CAPP-seq. Among 65 cancers, 63(98%) harbored one or more non-synonymous somatic mutation. The most frequently altered genes were TP53 (35%), APC (32%), KRAS (19%). 10 cases of 45 ovarian cancers were treated with neoadjuvant chemotherapy (NAC), which included 6 NAC-sensitive cases and 4 NAC-resistant cases. bTMB was significantly decreased in NAC-sensitive cases after NAC. These findings suggest that bTMB may lead to the development of novel personalized treatment strategies in gynecological cancer

研究分野：産婦人科

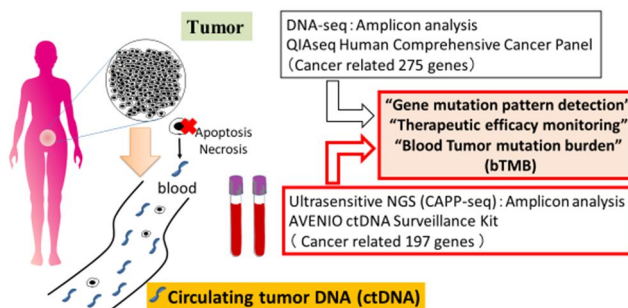
キーワード：リキッドバイオプシー 婦人科癌 bTMB

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

進行婦人科癌の予後は不良であり、新規治療戦略が求められている。現在、複数の分子標的薬が新規治療薬として臨床試験が行われているが、有効な症例を絞り込むための治療予測・薬剤選択バイオマーカーが求められている。

候補として、腫瘍組織の遺伝子変異数の指標である Tumor Mutation Burden (TMB) が報告されているが、進行/再発症例で組織採取が困難な症例では解析できない。肺癌において、TMB を Liquid Biopsy で検出する、“Blood Tumor Mutation Burden (bTMB)” が報告され、免疫療法の効果予測マーカーとして世界的に注目を集めている。婦人科癌は他癌種に比べると Precision medicine 研究が遅れている領域であり、これまでに ctDNA-Liquid Biopsy による網羅的な遺伝子解析研究はほとんどない。結果として新規分子標的薬・免疫チェックポイント阻害薬の臨床応用の遅れをもたらしており、進行婦人科癌の予後不良症例の治療選択肢が限られ、婦人科癌における Precision medicine 研究の推進は急務となっている。

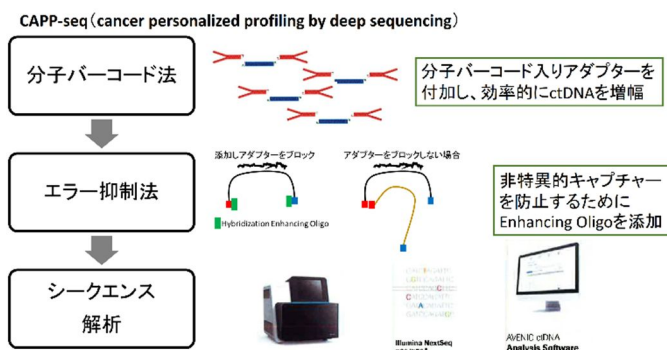


“Blood Tumor Mutation Burden (bTMB)” が報告され、免疫療法の効果予測マーカーとして世界的に注目を集めている。婦人科癌は他癌種に比べると Precision medicine 研究が遅れている領域であり、これまでに ctDNA-Liquid Biopsy による網羅的な遺伝子解析研究はほとんどない。結果として新規分子標的薬・免疫チェックポイント阻害薬の臨床応用の遅れをもたらしており、進行婦人科癌の予後不良症例の治療選択肢が限られ、婦人科癌における Precision medicine 研究の推進は急務となっている。

2. 研究の目的

近年、新たな ctDNA を用いた Liquid Biopsy の網羅的な遺伝子解析技術として、分子バーコード法とエラー抑制法を併用する超高感度次世代シーケンサー法である CAPP-seq (cancer personalized profiling by deep sequencing) が開発され、ctDNA 中の癌特異的な遺伝子異常を検出・定量が可能となった。CAPP-seq では末梢血中の ctDNA 中の 197 種類の癌特異的な遺伝子異常

(一塩基置換、挿入、欠失、融合、コピー数変異) を 99.99%以上の感度・特異度で検出・定量することができ、これまでの Liquid Biopsy 研究で問題となっていた“検出感度”と“網羅性”を兼ね備えた ctDNA 解析が可能となり、腫瘍特性診断や経時的モニタリングに有用だと言われている。以前より婦人科癌における超高感度次世代シーケンサー法である CAPP-seq を用いた Liquid biopsy 研究を開始しており、本研究ではその技術を応用することにより、婦人科癌における網羅的な遺伝子変異解析、新規血液バイオマーカーとしての bTMB の有用性について検討する。



（一塩基置換、挿入、欠失、融合、コピー数変異）を 99.99%以上の感度・特異度で検出・定量することができ、これまでの Liquid Biopsy 研究で問題となっていた“検出感度”と“網羅性”を兼ね備えた ctDNA 解析が可能となり、腫瘍特性診断や経時的モニタリングに有用だと言われている。以前より婦人科癌における超高感度次世代シーケンサー法である CAPP-seq を用いた Liquid biopsy 研究を開始しており、本研究ではその技術を応用することにより、婦人科癌における網羅的な遺伝子変異解析、新規血液バイオマーカーとしての bTMB の有用性について検討する。

3. 研究の方法

(1) CAPP-seq を用いた circulating tumor DNA による網羅的な遺伝子変異解析

患者個別にインフォームドコンセントを行い、文書にて本研究に同意を得られた症例を対象とした。治療の前後の通常の臨床検査に必要な採血時に、同時に研究用の患者血液検体を採取した。血漿検体から抽出した ctDNA の Ultrasensitive NGS による網羅的な遺伝子変異解析は、AVENIO ctDNA Surveillance Kit (Roche Diagnostics) を用い行なった。

(2) CAPP-seq を用いた circulating tumor DNA による bTMB 解析

腫瘍組織の遺伝子変異数の指標である Tumor Mutation Burden (TMB)が薬剤バイオマーカーとして注目されているが、進行/再発症例などの十分な組織採取困難な症例は解析できない。そこで、腫瘍組織を用いた TMB を Liquid Biopsy で検出する、“Blood Tumor Mutation Burden (bTMB)”を解析した。血液検体の“bTMB”は、1Mb 当たりの血液中 ctDNA から検出される nonsynonymous な体細胞変異の数で計算した。

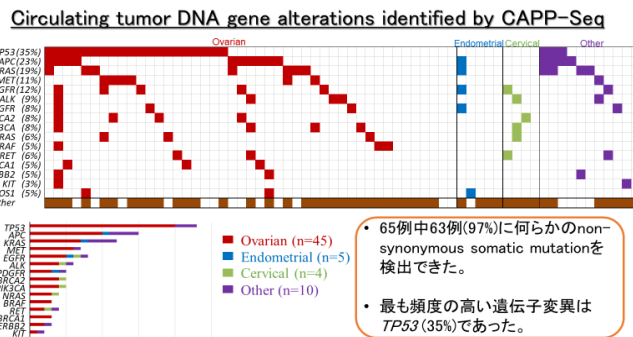
(3) CAPP-seq を用いた卵巣癌術前化学療法の治療効果予測の検討

進行卵巣癌の治療として術前補助化学療法 (NAC) が行われているが、現在のところ術前に腫瘍の組織型や遺伝子変異などの腫瘍の特性を同定することは困難であり、また腫瘍マーカー以外の治療効果判定のためのバイオマーカーは確立されておらず、進行卵巣癌における個別化医療の障害となっている。そこで、NAC 前後の採血検体を用い、CAPP-seq を用いた卵巣癌術前化学療法の治療効果予測・モニタリングとしての有用性について検討する。

4. 研究成果

(1) CAPP-seq を用いた circulating tumor DNA による網羅的遺伝子変異解析

今回は、婦人科癌患者 65 例(子宮頸癌 4 例、子宮体癌 5 例、卵巣癌 45 例、その他 11 例) の ctDNA から腫瘍由来の遺伝子変異 CAPP-seq を用いて高感度・網羅的に検出を行った。65 例中 63 例に ctDNA から何らかの nonsynonymous な体細胞変異を検出でき、TP53 (35%)、APC (32%)、KRAS (19%)などを検出できた。

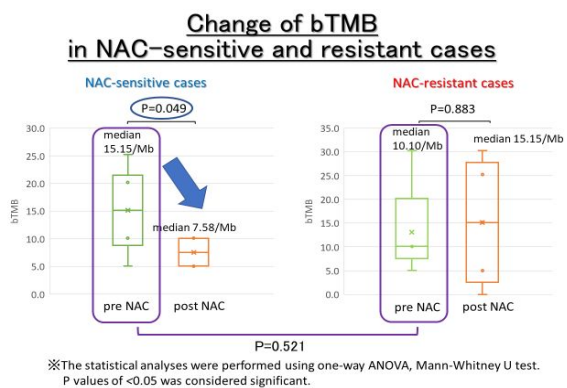


(2) CAPP-seq を用いた circulating tumor DNA による bTMB 解析

bTMB の中央値は 15.15/Mb (0.00-267.67)であり、各癌種、進行期での有意差はなかった。

(3) CAPP-seq を用いた卵巣癌術前化学療法の治療効果予測の検討

進行卵巣癌に対して NAC 施行した 10 例中、NAC-sensitive は 6 例、NAC-resistant は 4 例であった。NAC-sensitive 症例では、NAC 後の bTMB は有意に減少していたが、NAC-resistant 症例では有意差はなかった。NAC-sensitive 症例のうち 5 例では、NAC 前に検出できた変異アレル頻度は減少し、NAC-resistant 症例のうち 2 例は、NAC 前に検出できた変異アレル頻度が上昇、または新たな変異を認めていた。



(4) まとめ

多くの婦人科癌では CAPP-seq による遺伝子プロファイリングが有用であり、bTMB は治療モニタリングの新たなバイオマーカーになる可能性が示唆された。今後さらに症例を蓄積し、婦人科癌において Liquid Biopsy による有用性について検討していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Noguchi Tomoko, Iwahashi Naoyuki, Sakai Kazuko, Matsuda Kaho, Matsukawa Hitomi, Toujima Saori, Nishio Kazuto, Ino Kazuhiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Comprehensive Gene Mutation Profiling of Circulating Tumor DNA in Ovarian Cancer: Its Pathological and Prognostic Impact	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 3382 ~ 3382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12113382	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 Iwahashi Naoyuki, Sakai Kazuko, Noguchi Tomoko, Yahata Tamaki, Matsukawa Hitomi, Toujima Saori, Nishio Kazuto, Ino Kazuhiko	4. 巻 9
2. 論文標題 Liquid biopsy-based comprehensive gene mutation profiling for gynecological cancer using CAncer Personalized Profiling by deep Sequencing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-019-47030-w	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 Noguchi Tomoko, Sakai Kazuko, Iwahashi Naoyuki, Matsuda Kaho, Matsukawa Hitomi, Yahata Tamaki, Toujima Saori, Nishio Kazuto, Ino Kazuhiko	4. 巻 -
2. 論文標題 Changes in the gene mutation profiles of circulating tumor DNA detected using CAPP?Seq in neoadjuvant chemotherapy?reated advanced ovarian cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology Letters	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) 10.3892/ol.2020.11356	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tomoko Noguchi, Naoyuki Iwahashi, Kaho Matsuda, Hitomi Matsukawa, Yasushi Mabuchi, Shigetaka Yagi, Kazuhiko Ino
2. 発表標題 Utility of profiling somatic mutation in circulating tumor DNA and blood tumor mutation burden detected by liquid biopsy in ovarian cancer.
3. 学会等名 第72回 日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口 智子、岩橋 尚幸、馬淵 泰士、八木 重孝、南 佐和子、坂井 和子、西尾 和人、井籠 一彦
2. 発表標題 卵巣癌における血中腫瘍細胞由来DNAの網羅的遺伝子変異解析とbTMB測定の有用性
3. 学会等名 第62回 日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野口 智子、岩橋 尚幸、八幡 環、井籠 一彦
2. 発表標題 Utility of circulating tumor DNA liquid biopsy for detecting real-time gene mutation change and monitoring treatment response in neoadjuvant chemotherapy-treated advanced ovarian cancer
3. 学会等名 第71回 日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野口 智子、岩橋 尚幸、八幡 環、馬淵 泰士、八木 重孝、坂井 和子、西尾 和人、井籠 一彦
2. 発表標題 進行卵巣癌の NAC 症例における CAPP-seq による liquid biopsy の有用性について の検
3. 学会等名 第61回 日本婦人科腫瘍学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野口 智子、岩橋 尚幸、馬淵 泰士、八木 重孝、坂井 和子、西尾 和人、井籠一彦
2. 発表標題 Liquid biopsyによる卵巣癌術前化学療法の治療効果予測に関する研究
3. 学会等名 第57回 日本癌治療学会学術集会
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
---------	---------