

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K22650

研究課題名（和文）腫瘍クロンの追跡に基づいた肺癌治療体系構築への挑戦

研究課題名（英文）Postoperative management of lung cancer based on tracing tumor clones

研究代表者

吉野 一郎（Yoshino, Ichiro）

千葉大学・医学部附属病院・特任教授

研究者番号：40281547

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：肺癌術後の予測因子として、腫瘍由来の循環腫瘍クロンDNAによるmolecular stagingが術後再発予測に有用である可能性がある。本研究では手術予定の肺癌患者を前向きに登録し、術後再発を認めた患者について、その経過中に採取した血漿より抽出したDNAを使用して次世代シーケンサーによる遺伝子変異解析を行い、その可能性について検討した。その結果、想定していた腫瘍クロンは確認できなかったが、TP53やERBB2といった遺伝子の変異が各症例の各サンプル間で共通して認められることが多かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原発性肺癌に対する手術治療成績は術適応とされてきたIB期、IIA期、IIB期、IIIA期の各5年生存率は71.5%、60.2%、58.1%、50.6%、無再発5年生存率では60.1%、48.9%、45.1%、39.8%と未だ満足できるものではなく、治療成績の向上が望まれている。本研究は、血漿中の腫瘍循環クロンDNAに着目し、術後の再発予測に有用であるか検討した。今回は有意な腫瘍クロンは確認できなかったが、進行期の肺癌患者において多くみられる遺伝子異常の可能性を提示した。今後、周術期治療の方針決定などにおいて血漿中の腫瘍クロンが役割を持つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：Molecular staging of tumor-derived circulating tumor DNA clones may be useful as a predictor of post-operative recurrence in lung cancer. In this study, we prospectively enrolled lung cancer patients planned for surgery and investigated the possibility of molecular staging by performing genetic mutation analysis by next-generation sequencing using DNA extracted from plasma collected during the course of patients with post-operative recurrence. The results showed that the envisaged tumor clones could not be identified, but mutations in genes such as TP53 and ERBB2 were often found in common between each sample in each case.

研究分野：医歯薬学

キーワード：肺癌術後再発 腫瘍由来遺伝子変異 次世代シーケンサー cell free DNA circulating tumor DNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

原発性肺癌は我が国で最も多いがん死亡原因であり、2016年は73,838人が死亡しており、全がん死亡(372,986人)の約20%、全死亡数(1,296,000人)の約5.7%に達し、なおも増加傾向にある。近年、分子標的療法の発達・深化と、免疫療法の導入により、進行・再発症例の予後が改善されつつあるが、効果は依然限定的で、長期生存例の多くは担がん生存であり、治療にかかるコストも拡大の一途を歩んでいる。唯一早期治療が期待される外科治療は、放射線画像的に把握された空間的な病変の進展範囲に応じて臨床病期分類がなされ、主に臨床Ⅰ期からⅢ期の一部に切除が可能と判断されてきた。しかしながら手術適応とされてきたⅠB期、ⅠIA期、ⅠIB期、ⅠIIA期の各5年生存率は71.5%、60.2%、58.1%、50.6%、無再発5年生存率では60.1%、48.9%、45.1%、39.8%と未だ満足できるものではなく、治療成績の向上が望まれている。

一方、近年高精度な次世代シーケンサーの登場により、腫瘍細胞の多様性獲得を示すクローン進化系統樹の可視化が可能となっている。特に英国では、完全切除された肺癌症例の術後経過観察中の血液から腫瘍由来のDNAを抽出して次世代シーケンサーにより変異遺伝子を検出することで、腫瘍クローンを追跡する研究が進行している。この研究からは、腫瘍内不均一性に着目したcancer evolution理論や宿主免疫との競合・逃避、**molecular recurrence**などの新しいがん治療の概念が提唱されており、今後これらの知見をはじめとする腫瘍のゲノムレベルの解析が肺がん患者の臨床転帰の改善に寄与する可能性が期待されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、臨床ⅠB-ⅠVA期肺癌患者の循環腫瘍クローンの検出によるmolecular stagingの可能性を示し、さらに治療切除された後のmolecular recurrenceを検出して術後再発との関連を示すことで、腫瘍クローンのmolecularly monitoringに基づいた新規治療コンセプトを提唱することである。

3. 研究の方法

千葉大学医学部附属病院呼吸器外科にて原発性肺癌に対する手術予定患者のうち、術後に高率に再発をきたすと考えられるⅠB-ⅠVA期非小細胞性肺癌患者を前向きに登録し、術前から術後にかけて定期的に血液を採取し、血漿を凍結保存する。再発を認められた症例について、保存凍結血漿からcell free DNA(cfDNA)を抽出し、DNAのクオリティチェックを行なった後に、次世代シーケンサーにてcfDNAの解析を行い、腫瘍クローンの検出を試みる(図1)。

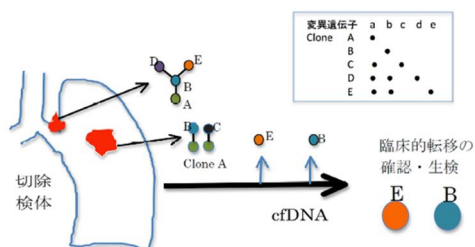


図1: 本研究における検体採取・解析モデル

4. 研究成果

局所進行非小細胞性肺癌患者で完全切除を得た15症例を前向きに登録し、術後経過観察を行なった。最終的に術後再発を生じた3症例14検体からcfDNAを抽出し、肺癌パネルを用いた次世代シーケンサーによる解析を行なった。抽出したDNAの量および質はバイオアナライザーにて解析し、1検体を除き、解析には十分なものであった。検出した各遺伝子変異についてはVAF(Variant alleyl frequency)値により検証した。VAF値が99%に近い遺伝子変異は体細胞由来の変異、VAF値が50%程度の遺伝子変異は胚細胞由来の遺伝子変異と判断し、非体細胞・非胚細胞由来の遺伝子変異に着目した。結果は、各定点で採取したサンプル間で共通して検出される非体細胞、非胚細胞由来の遺伝子変異は数個~10個程度検出されたが、解析前に想定していた、“術前にVAFが高く、術後に低下し、再発前に再上昇してくる遺伝子変異、いわゆる腫瘍クローンは確認できなかった(表1)。一方で、TP53やERBB2といった遺伝子の変異は各症例の各サンプル間で共通して見られることが多かった(表1)。これらの潜在的な遺伝子変異が、癌の再発や転移に寄与する可能性が考えられた。

変異	variant type	遺伝子	VAF値 (read数)	術直前	術直後	術後3ヶ月	術後半年	再発時
chr7:55146655_C>T	<u>synonymous_variant</u>	EGFR		0.417(509)	0.446(816)	0.409(538)	0.422(871)	0.417(889)
chr7:55181370_G>A	<u>synonymous_variant</u>	EGFR		0.468(1157)	0.522(1330)	0.487(973)	0.533(1282)	0.515(1386)
chr7:55181370_G>A	<u>intragenic_variant</u>	EGFR-AS1		0.468(1157)	0.522(1330)	0.487(973)		0.515(1386)
chr7:55198724_T>C	<u>synonymous_variant</u>	EGFR		0.931(1174)	0.953(1940)	0.931(1157)	0.957(2051)	0.953(1928)
chr7:55201223_C>T	<u>synonymous_variant</u>	EGFR		0.505(735)	0.488(1160)	0.472(636)	0.489(1357)	0.503(1256)
chr7:116757518_A>G	<u>synonymous_variant</u>	MET		0.964(763)	0.966(1120)	0.943(542)	0.964(614)	0.968(1093)
chr10:43100520_A>G	<u>synonymous_variant</u>	RET		0.999(1332)	0.999(1917)	0.999(1317)	0.999(2028)	0.999(2023)
chr10:43111239_A>G	<u>synonymous_variant</u>	RET		0.999(1455)	0.998(2064)	0.999(1400)	0.999(2300)	0.999(2286)
chr17:7673792_G>C	<u>synonymous_variant</u>	TP53		0.011(1303)	0.0079(1652)	0.010(1019)	0.0070(1898)	0.0066(2014)
chr17:7673802_C>T	<u>missense_variant</u>	TP53		0.023(936)	0.0028(1231)	0.014(763)	0.010(1375)	0.0090(1466)
chr17:7673806_C>T	<u>missense_variant</u>	TP53		0.022(973)	0.014(1312)	0.022(793)	0.011(1392)	0.010(1506)
chr17:7676154_G>C	<u>missense_variant</u>	TP53		0.519(571)	0.501(857)	0.527(635)	0.491(1011)	0.526(882)
chr17:39724731_A>C	<u>synonymous_variant</u>	ERBB2		0.019(2335)	0.017(2769)	0.0093(1767)	0.016(3021)	0.015(3033)
chr17:39724788_G>C	<u>synonymous_variant</u>	ERBB2		0.020(1973)	0.013(2285)	NA	0.014(2608)	0.011(2493)
chr17:39724791_A>C	<u>synonymous_variant</u>	ERBB2		0.020(1982)	0.013(2309)	NA	0.014(2643)	0.011(2531)
chr17:39724797_G>C	<u>synonymous_variant</u>	ERBB2		0.020(1955)	0.013(2306)	NA	0.014(2646)	0.011(2542)
chr17:39727784_C>G	<u>missense_variant</u>	ERBB2		0.358(1634)	0.354(2035)	0.336(1423)	0.371(2163)	0.375(2359)

赤字：非体細胞・非胚細胞性の遺伝子変異

表1：サンプル間で共通して検出した遺伝子変異の一例

本研究は、前向きな症例収集であり、結果的に EGFR exon19 del などの治療標的となるような Common mutation がない症例での解析となった。このような症例が含まれていれば、より明瞭に molecular な追跡が可能であろうと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yamamoto Takayoshi, Suzuki Hidemi, Sakairi Yuichi, Iwata Takekazu, Iizasa Toshihiko, Tagawa Tetsuzo, Yoshida Shigetoshi, Takemura Ryo, Sato Yasunori, Yoshino Ichiro	4. 巻 53
2. 論文標題 Thrombus formation at the stump of the pulmonary vein after lobectomy: a prospective multi-institutional study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 1343 ~ 1351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-023-02692-y	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 Karita Ryo, Suzuki Hidemi, Onozato Yuki, Kaiho Taisuke, Inage Terunaga, Ito Takamasa, Tanaka Kazuhisa, Sakairi Yuichi, Yoshino Ichiro	4. 巻 54
2. 論文標題 A simple nomogram for predicting occult lymph node metastasis of non-small cell lung cancer from preoperative computed tomography findings, including the volume-doubling time	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 31 ~ 40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-023-02695-9	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 Toyoda Takahide, Nakajima Takahiro, Yamanaka Takahiro, Sata Yuki, Inage Terunaga, Sakairi Yuichi, Fujiwara Taiki, Suzuki Hidemi, Yoshino Ichiro	4. 巻 1
2. 論文標題 Postoperative Prognosis of Patients with Non-small Cell Lung Cancer with cN0 and pN2	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Respiratory Endoscopy	6. 最初と最後の頁 52 ~ 57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.58585/respnd.2023-0030	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 Wada Hironobu, Suzuki Hidemi, Sakairi Yuichi, Tanaka Kazuhisa, Sata Yuki, Toyoda Takahide, Inage Terunaga, Matsui Yukiko, Yoshino Ichiro	4. 巻 72
2. 論文標題 Can modified frailty index predict postoperative complication after lung cancer surgery?	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 General Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 176 ~ 182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11748-023-01962-3	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 Yamanaka Takahiro, Sakairi Yuichi, Sata Yuki, Toyoda Takahide, Inage Terunaga, Tanaka Kazuhisa, Suzuki Hidemi, Matsui Yukiko, Yoshino Ichiro	4. 巻 16
2. 論文標題 What are the risk factors for postoperative home oxygen therapy in patients with lung cancer?	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Disease	6. 最初と最後の頁 989 ~ 996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jtd-23-1539	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Ochih T, Sakairi Y, Sata Y, Toyoda T, Inage T, Tnaka K, Suzuki H, Matsui Y, Ota M, Yoshino I
2. 発表標題 Intravenous Indocyanine Green Administration Provides Sufficient Margins in Pulmonary Segmentectomy
3. 学会等名 World Conference on Lung Cancer Singapore (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究分担者	中島 崇裕 (Nakajima Takahiro) (20400913)	獨協医科大学・医学部・准教授 (32203)	
研究分担者	鈴木 秀海 (Suzuki Hidemi) (60422226)	千葉大学・医学部附属病院・講師 (12501)	
研究分担者	田中 教久 (Tanaka Kazuhisa) (80732461)	千葉大学・医学部附属病院・助教 (12501)	

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