

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09540

研究課題名(和文)腎癌の循環腫瘍DNAによる変異プロファイル進化の解明と個別化医療への臨床応用

研究課題名(英文) Evolution of the mutational profile of circulating tumor DNA in renal cancer and its clinical application to personalized medicine

研究代表者

山本 致之 (Yamamoto, Yoshiyuki)

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：90759557

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：薬物治療の進歩にも関わらず、転移性腎癌の予後は不良である。血液腫瘍マーカーを含む腎癌特異的な血液バイオマーカーは存在しない。多くの癌種にて循環腫瘍DNAがバイオマーカーとして注目されている。本研究は腎癌の循環腫瘍DNAの遺伝子変異パネルを用いて、変異プロファイルの進化を解明することが目的である。

循環腫瘍DNAの変異解析はGuardant360のシステムを用いた。薬物治療前の転移性腎癌患者13症例中11例で循環腫瘍DNAを同定した。遺伝子変異はVHLが6例と最も多かった。腎癌は一般的に他癌種よりも循環腫瘍DNAが比較的検出しにくい、改めて本遺伝子変異パネルの有効性を腎癌でも確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、多くの癌種において癌組織DNAならびに循環腫瘍DNAのクリニカルシーケンスが本邦でも実施されている。腎癌は一般的に他癌種よりも循環腫瘍DNAが比較的検出しにくいと報告されている。本研究では13例中11例(85%)で循環腫瘍DNAを検出し、改めて本遺伝子変異パネルの有効性を腎癌でも確認できた。またリッドバイオプシーは低侵襲で有効な検査であるが、癌組織シーケンスだけで検出される遺伝子変異も存在するため、今後ますます発展していくと思われるクリニカルシーケンスにおいて、本研究は一助となっていると考える。

研究成果の概要(英文)：Despite advances in drug treatment, the prognosis for metastatic renal cancer is poor. There are no renal cancer-specific blood biomarkers. Recently, circulating tumor DNA has attracted attention as a biomarker in many cancer types. The aim of this study is to elucidate the evolution of the mutation profile of circulating tumor DNA in renal cancer using a panel of genetic variants.

Mutation analysis of circulating tumor DNA was performed using the Guardant360 system. Circulating tumor DNA was identified in 11 of 13 patients with metastatic renal cancer prior to drug treatment. VHL was the most common genetic mutation in 6 cases. Although circulating tumor DNA is generally relatively harder to detect in renal cancer than in other types of cancer, the efficacy of this gene mutation panel was once again confirmed in renal cancer.

研究分野：泌尿器腫瘍

キーワード：腎癌 循環腫瘍DNA

1. 研究開始当初の背景

免疫療法や分子標的治療薬の複合治療が腎癌にも次々と導入されているが、依然転移性腎癌の予後は不良である。現在、血液腫瘍マーカーを含む腎癌特異的な血液バイオマーカーは存在せず、腎癌は典型的な不均一性を持つ癌種であり、それを克服するバイオマーカーが求められている。近年、多くの癌種にて循環腫瘍 DNA がバイオマーカーとして注目されている。循環腫瘍 DNA は、全身の腫瘍由来であり不均一性を克服できると考えられている。本研究では、分子バーコードを使用し腎癌循環腫瘍 DNA に特化した遺伝子変異パネルを開発する。この遺伝子変異パネルを用いて、腎癌の遺伝子変異プロファイルの進化を解明し、最終的に個別化医療につなげる研究へと進める。

2. 研究の目的

本研究の目的は大きく以下の2項目となる。

(1) 低アリル頻度の循環腫瘍 DNA 変異を検出する腎癌特異的なパネルの開発：近年注目されている分子バーコードを用いて、低アリル頻度変異を検出できる腎癌に特化した変異パネルを開発する。

(2) 腎癌の遺伝子変異の進化の解明と薬物治療バイオマーカーの構築：本研究では、独自の変異パネルを用いて腎癌循環腫瘍 DNA プロファイルの変化を明らかにし、増殖に重要なドライバー変異を同定する。本研究で開発する循環腫瘍 DNA に特化した遺伝子検査パネルを使用し、臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

(1) 腎癌に対する分子バーコードを使用した血中循環腫瘍 DNA 変異パネルの構築への挑戦

本研究は当初、分子バーコードを使用した独自の血中循環腫瘍 DNA 変異パネルの構築を行うことを目標に開始した。分子バーコードは低頻度変異とエラーを識別することが可能となり、より高精度な解析が可能となる。本研開始時点では、分子バーコードはアジレント社の SureSelect XT HS の利用を考えており、解析は同社の Surecall 1 で行うことを予定していた。腎癌における変異発生頻度や重要性、遺伝子領域の広さを考慮してパネル設計を自身で行ったが、効率のよい設計に至らなかったため、別の方法での腎癌の血中循環腫瘍 DNA を同定することとした。

(2) 既存の循環腫瘍 DNA パネルの腎癌への応用

(1) で自身での血中循環腫瘍 DNA 同定のための変異パネル作成を断念し、方針転換することとした。血中遊離 DNA は薬物治療前の転移性腎癌患者の血漿 1-2ml から、QIAGEN QIAsymphony SP Instrument and reagent system を用いて抽出した。分子バーコード用いてシークエンスを実施し、解析パイプラインは Guardant360 のパイプラインを使用した。

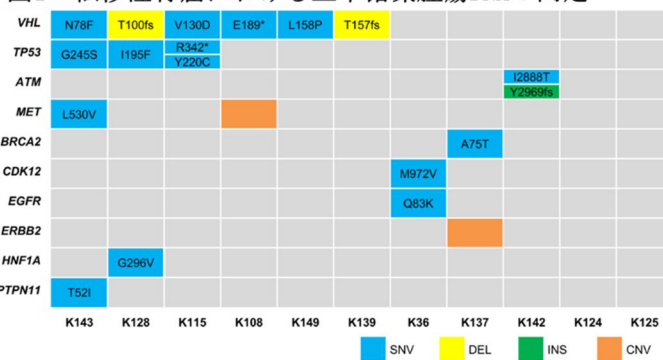
(3) 腎癌における分子バーコードを用いた循環腫瘍 DNA の同定

薬物治療前の転移性腎癌患者 13 症例中 11 例で循環腫瘍 DNA を同定した。遺伝子変異は VHL が 6 例と最も多く、次いで TP53 が 3 例、MET が 2 例、ATM、BRCA2、CDK12、EGFR、ERBB2、HNF1A、PTPN11 が各 1 例ずつであった(図 1)。変異種類に関して、1 塩基置換が 15 個、欠失が 2 個、コピー数異常が 2 個、挿入が 1 個であった(図 1)

(4) 腎癌における組織遺伝子変異と循環腫瘍 DNA 変異の一致

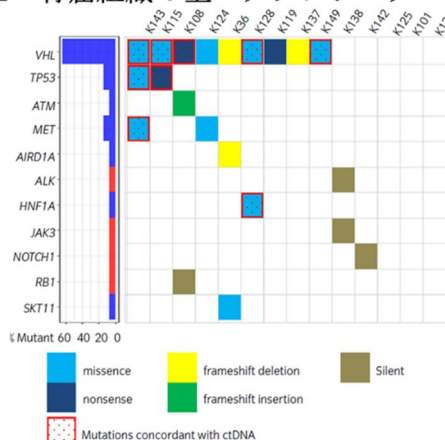
循環腫瘍 DNA を検出した症例と同一の症例で腎癌組織の変異検出を全エクソンシークエンスにて行った。VHL 変異が 64.3%と最も多く、次いで PBRM1 が 50.0%、BAP1 が 35.7%であり、既存の報告と同様の結果であった。次に循環腫瘍 DNA 解析を行った 14 症例において、各遺伝子変異の一致率を検討した。VHL、TP53、MET 遺伝子変異をそれぞれ 9、2、2 症例に認め、先に

図1 転移性腎癌における血中循環腫瘍DNAの同定



引用：Koh Y, et al. Int J Urol. 2022

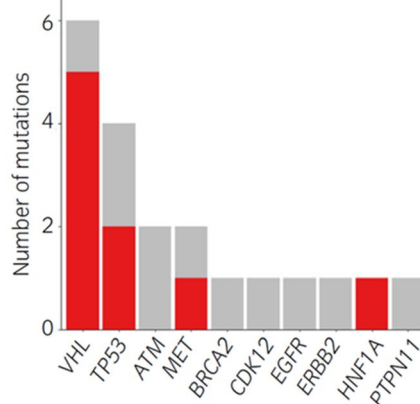
図2 腎癌組織の全エクソンシークエンス



引用：Koh Y, et al. Int J Urol. 2022

同定した循環腫瘍 DNA との変異一致率は 55.6%、100%、50%であった(図 2)。また一方、同定した 20 個の循環腫瘍 DNA 変異の中で、VHL は 5/6 が組織遺伝子変異と一致し、同様に TP53 が 2/4、MET が 1/2、HNF1A が 1/1 で一致し、その他の遺伝子変異に関しては循環腫瘍 DNA と腎癌組織 DNA で一致しなかった(図 3)。以上の結果から循環腫瘍 DNA と腎癌組織 DNA の片方でしか検出できない腎癌遺伝子変異が存在するため、それぞれの遺伝子変異検査を実施し、それを組み合わせることで、より多くの遺伝子変異を検出できる可能性が示唆された。

図3 腎癌循環腫瘍DNAと腎癌組織DNAの変異の比較



引用 : Koh Y, et al. Int J Urol. 2022

4 . 研究成果

現在、多くの癌種において癌組織 DNA ならびに循環腫瘍 DNA のクリニカルシーケンスが本邦でも実施されている。腎癌は一般的に他癌種よりも循環腫瘍 DNA が比較的検出しにくいと報告されている。本研究では 13 例中 11 例 (85%) で循環腫瘍 DNA を検出し、改めて本遺伝子変異パネルの有効性を腎癌でも確認できた。またリキッドバイオプシーは低侵襲で有効な検査であるが、癌組織シーケンスだけで検出される遺伝子変異も存在するため、今後ますます発展していくと思われるクリニカルシーケンスにおいて、本研究は一助となっていると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yoko Koh, Kosuke Nakano, Kotoe Katayama, Gaku Yamamichi, Satoru Yumiba, Eisuke Tomiyama, Makoto Matsushita, Yujiro Hayashi, Yoshiyuki Yamamoto, Taigo Kato, Koji Hatano, Atsunari Kawashima, Takeshi Ujike, Ryoichi Imamura, Rui Yamaguchi, Seiya Imoto, Yukimasa Shiotsu, Norio Nonomura, Motohide Uemura	4. 巻 29
2. 論文標題 Early dynamics of circulating tumor DNA predict clinical response to immune checkpoint inhibitors in metastatic renal cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International journal of urology	6. 最初と最後の頁 462-469
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.14816.	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	植村 元秀 (Uemura Motohide) (40631015)	大阪大学・大学院医学系研究科・招へい准教授 (14401)	

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