

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：21601
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2020～2022
課題番号：20H03815
研究課題名(和文) がん組織を用いたマルチオミックス解析による個別化医療開発プラットフォームの構築

研究課題名(英文) Establishment of precision medicine for multi-omics approaches using cancer tissue

研究代表者
植村 元秀 (Uemura, Motohide)
福島県立医科大学・医学部・特任教授

研究者番号：40631015
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：上部尿路上皮がんUTUCにおける周術期の循環腫瘍DNA(ctDNA)の臨床的有用性を検討する研究も行った。ctDNAの検出率およびfractionは病理病期の進行に伴い上昇し、術前ctDNA fraction2%以上であることが有意に無再発生存率と関連していた。さらに、術前ctDNA陽性例において、術後に陽性が持続していた例では陰性化した例と比較することで、微小残存病変(MRD)が検出できることが示唆された。また、転移性UTUCにおいてctDNAの変化が全身治療に対する反応性と関連していた。UTUCにおいて、血中ctDNAはMRDの検出や全身治療のモニタリングに有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究の結果を踏まえて、前向き臨床研究を計画している。それにより、術後早期の尿路上皮がんの再発を簡便にモニタリングすることができるようになり、適切な予防あるいは早期の治療を行うことができることになり、社会的意義は大きいものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The first objective of this study was to verify whether perioperative circulating tumor DNA (ctDNA) analysis using a pan-cancer gene panel and next-generation sequencing could identify patients with poor prognosis who require perioperative chemotherapy. Second, we investigated whether ctDNA is useful for minimal residual disease (MRD) detection and treatment monitoring in UTUC.

We performed targeted ultradeep sequencing of plasma cell-free DNA (cfDNA) and buffy coat DNA and whole-exome sequencing of cancer tissues, allowing exclusion of possible false positives. Among preoperative risk factors, only the preoperative ctDNA fraction>2% was a significant and independent risk factor associated with worse recurrence-free survival (RFS). Furthermore, the existence of ctDNA early points after the operation was significantly associated with worse RFS, suggesting the presence of MRD. Detection of ctDNA may indicate potential metastasis and guide decisions on perioperative chemotherapy.

研究分野：泌尿器がん

キーワード：尿路上皮がん 血液バイオマーカー ctDNA 次世代シーケンズ

1. 研究開始当初の背景

筋層浸潤やリンパ節転移を伴う上部尿路上皮癌(UTUC)に対する術後補助化学療法の有効性が最近になって示された。術後の腎機能低下や合併症の観点から術前化学療法の導入に向けた動きがあるが、臨床病期分類の不正確性がその障壁となっている。血中循環腫瘍DNA(ctDNA)は、様々な癌腫において予後と関連しており、微小残存病変(Minimal Residual disease: MRD)の検出に有用であることが報告されている。

2. 研究の目的

本研究は二つの目的のために実施された。

- 1 UTUCにおいて ctDNA を用いて周術期化学療法を要する ハイリスク患者を術前に同定できるかを検証する。
- 2 ctDNA による術後の MRD 検出における有用性を評価する。

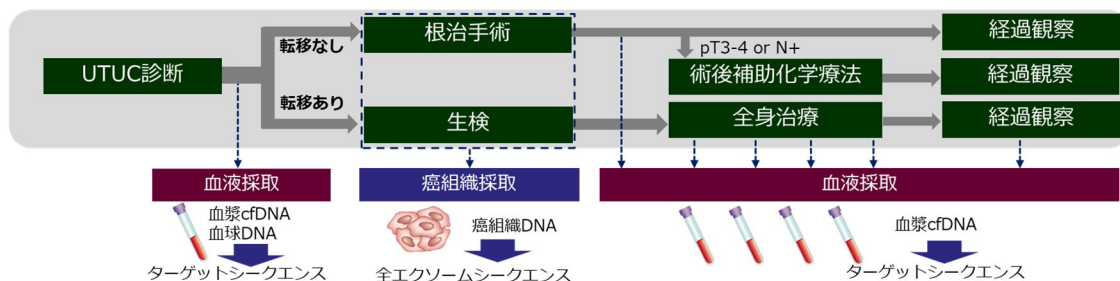
3. 研究の方法

当院で診断された未治療 UTUC 患者 50 例を対象とした。

血漿中の遊離 DNA(cfDNA)を癌種横断的遺伝子パネル*を用いてターゲットシーケンスを行うことで ctDNA を同定し、また癌組織 DNA の全エクソームシーケンスを併せて施行した。

cfDNA 中の ctDNA の分画は変異アレル頻度(MAF)を用いて算出し、ctDNA 分画>2%を術前のリスク因子として使用した。ctDNA 割合 = $2 / ((1 / \text{MAF}) + 1)$

サンプリングの流れ

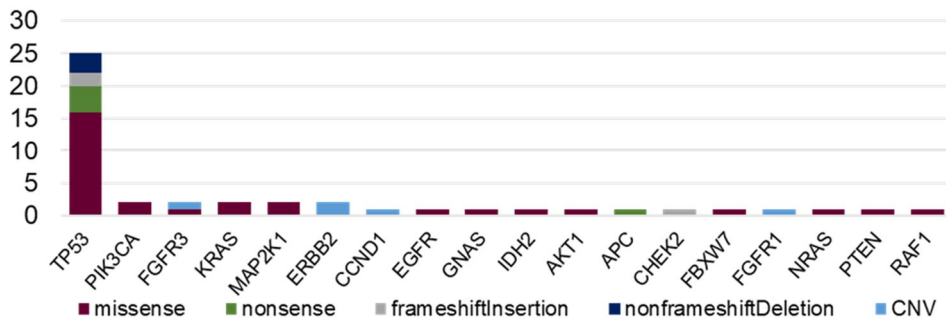


4. 研究成果

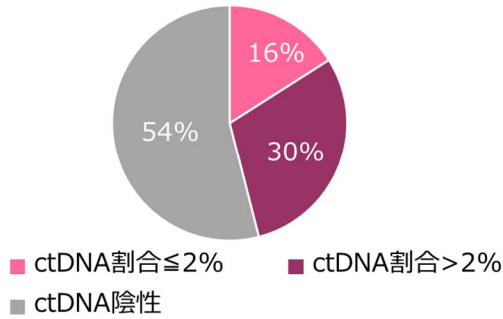
未治療 UTUC 患者における ctDNA 陽性率

ctDNA 陽性率は未治療 UTUC 患者 50 例のうち 23 例(46%)で、cfDNA 中の ctDNA の分画が 2%を超えたのは 15 例(30%)であった。進行癌になるほど ctDNA 陽性率は高かった。

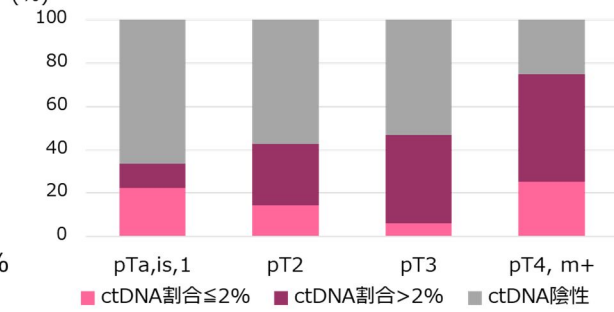
②-1. cfDNA中に検出された全変異遺伝子の内訳



②-2. ctDNA陽性率

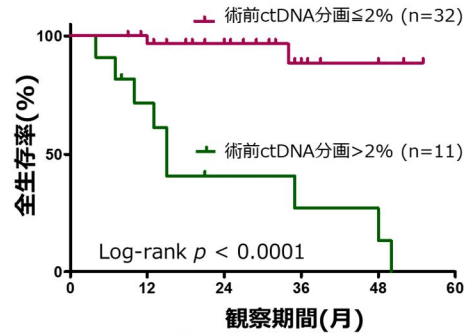
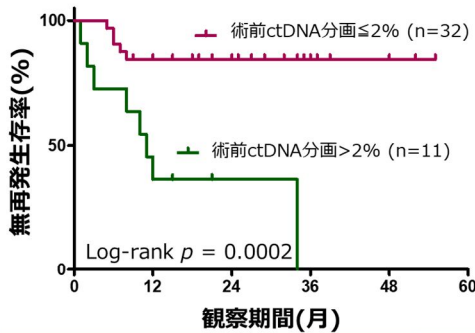


②-3. 組織学的深達度別のctDNA陽性率



術前 ctDNA による予後予測

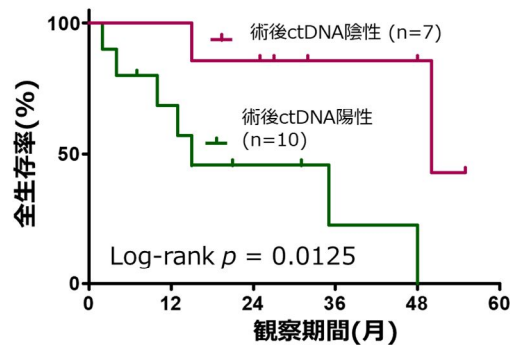
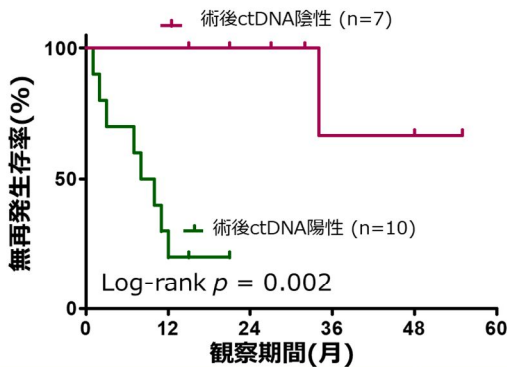
ctDNA 分画>2%のみが独立した無再発生存率予測因子であった。



	単変量解析			多変量解析		
	オッズ比	95%信頼区間	p値	オッズ比	95%信頼区間	p値
臨床的Tステージ (cT3-4 / cT1-2)	4.13	1.34-12.69	0.013	2.83	0.88-9.09	0.080
術前ctDNA (割合>2%/割合≤2%)	5.69	1.83-17.71	0.003	4.57	1.43-14.54	0.010

(上記以外に年齢、性別、BMI、喫煙歴、膀胱癌既往、腫瘍局在、尿細胞診、水腎症、診断から手術までの期間、CRP、NLRを解析項目として使用した。)

術後 ctDNA は独立した予後予測因子であり、MRD の存在を示唆した。



	単変量解析			多変量解析		
	オッズ比	95%信頼区間	p値	オッズ比	95%信頼区間	p値
術後ctDNA (陽性/陰性)	9.91	2.95-33.25	0.0002	8.03	2.35-27.45	0.0009
病理学的Tステージ (pT3-4/pT1-2)	5.86	1.61-21.34	0.0073	4.42	1.17-16.78	0.029
リンパ管侵襲 (陽性/陰性)	5.03	1.37-18.43	0.015	1.61	0.41-6.26	0.50

(上記以外に病理学的Nステージ、CIS、術後補助化学療法を解析項目として使用した。)

結論として

UTUC において血中 ctDNA は周術期化学療法を要するハイリスク症例を術前に選定することを可能にした。

術後 ctDNA は独立した予後予測因子であり、MRD の存在を示唆した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 1件）

1. 著者名 Nakano K, Koh Y, Yamamichi G, Yumiba S, Tomiyama E, Matsushita M, Hayashi Y, Wang C, Ishizuya Y, Yamamoto Y, Kato T, Hatano K, Kawashima A, Ujike T, Fujita K, Kiyotani K, Katayama K, Yamaguchi R, Imoto S, Imamura R, Nonomura N, Uemura M.	4. 巻 113
2. 論文標題 Perioperative circulating tumor DNA enables the identification of patients with poor prognosis in upper tract urothelial carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1830 ~ 1842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15334	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 Nakano K, Yamamoto Y, Yamamichi G, Yumiba S, Tomiyama E, Matsushita M, Koh Y, Hayashi Y, Wang C, Ishizuya Y, Kato T, Hatano K, Kawashima A, Ujike T, Fujita K, Nonomura N, Uemura M.	4. 巻 112
2. 論文標題 Fragmentation of cell free DNA is induced by upper tract urothelial carcinoma-associated systemic inflammation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 168 ~ 177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14679	査読の有無 無
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 Koh Y, Nakano K, Katayama K, Yamamichi G, Yumiba S, Tomiyama E, Matsushita M, Hayashi Y, Yamamoto Y, Kato T, Hatano K, Kawashima A, Ujike T, Imamura R, Yamaguchi R, Imoto S, Shiotsu Y, Nonomura N, Uemura M.	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 無
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	阿部 雄一 (Abe Yuichi) (30731632)	愛知県がんセンター(研究所)・分子診断TR分野・主任研究員 (83901)	
研究分担者	加藤 大悟 (Kato Taigo) (70648021)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	
研究分担者	山口 類 (Yamaguchi Rui) (90380675)	愛知県がんセンター(研究所)・システム解析学分野・分野長 (83901)	
研究分担者	小島 祥敬 (Kojima Yoshiyuki) (60305539)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	
研究分担者	洪 陽子 (Koh Yoko) (70824754)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	削除：2022年2月9日

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