

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06679

研究課題名（和文）リキッドバイオプシーを活用する膵癌化学療法マネジメント実用化への展開

研究課題名（英文）Practical utility of liquid biopsy for management of pancreatic cancer chemotherapy

研究代表者

伊藤 由佳子（Ito, Yukako）

京都薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：30278444

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）：リキッドバイオプシーによるCTCを活用した膵癌化学療法の有効性・安全性を担保し得る高精度治療マネジメントプラットフォーム構築による膵癌患者の予後改善を目指して、化学療法時のCTCの時間的推移について、FORFIRINOX、GnP療法を用いて、ヒト膵癌SUIT-2xenograftマウスに対する治療を、週一回投与を9週間おこない、長期治療時のCTC動態を検討した。CTC数は治療回毎に一過性の上昇を認めるものの、治療回数に伴ってCTC数が減少傾向がみとめられた。さらにin vitroでの腫瘍組織観察から治療後期では壊死部分と分裂部分が混在する不均一性を示し、治療効果を反映するシグナルと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌患者に対する化学療法レジメンの普及により5年生存率が約10年で10%（2020年1月）に到達したが未だ、化学療法施行時における、重篤な副作用出現、薬剤耐性による無奏功、転移の発見、によって化学療法レジメンの中断・中止・切替により予後不良へ転向を阻止する対策が望まれている。本課題では、リキッドバイオプシーでのCTCを活用した膵癌化学療法の有効性・安全性を担保し得る高精度治療マネジメントプラットフォームの構築から膵癌患者の予後改善を目指して、長期治療施行時のCTC動態の検討に基づいて行うことで精度の高い治療マネジメントが期待される。

研究成果の概要（英文）：Mobilization of CTCs after various types of therapy has been reported, but systematic study of CTCs after chemotherapy remained quite limited. CTC numbers after single-dose and repetitive-dose chemotherapy were examined in FORFIRINOX or GnP using pancreatic cancer xenograft models and CTC was detected by the immunocytology-based microfluidic platform. We confirmed a transient increase in CTCs 1-2 weeks after single-dose and repetitive-dose of chemotherapy. Histological examination of the primary tumors revealed that the peak period of CTC at 1-2 weeks after chemotherapy corresponded to the maximal destructive phase consisting of cell cycle arrest and apoptosis of tumor cells.

研究分野：医療薬学

キーワード：膵癌 リキッドバイオプシー CTC 血中循環腫瘍細胞 PK/PD

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵癌化学療法の普及に伴いこの10年で5年生存率において約2倍の予後改善が認められ(米国統計2020年1月)、化学療法に対する期待は大きいものの、いまだ2次治療の確立までには至っておらず、化学療法の中断・中止・切替を回避するための治療マネジメント構築が予後不良改善が求められている。また、近年のゲノム医療におけるリキッドバイオプシーの進歩に伴って癌治療の予後改善が検討されてきた。すなわち、バイオマーカーとしての血中循環腫瘍細胞(circulating tumor cell: CTC)、血中循環腫瘍DNA(ctDNA, cfDNA)、マイクロRNA(miRNA)、エクソソーム等、の候補マーカーを活用した治療指針は未確立である。

これまで我々は、ヒト膵癌細胞による膵癌モデルマウスについてCTC検出と予後との相関を報告し業績20、てきた。本課題ではリキッドバイオプシーによるCTCと抗がん剤濃度から腫瘍縮小効果と副作用発現予測のためのPK/PDおよびPK/TDモデルの同時活用による統合型治療マネジメントプラットフォーム確立による、化学療法レジメン完遂へと導くプレジジョン医療実現に向けたトランスレーショナルリサーチとしての成果を目指してマウスでの基礎的検討を行った。

2. 研究の目的

膵癌化学療法の予後改善にむけたプレジジョン医療実現を目指し、リキッドバイオプシーによるCTCについてと抗がん剤濃度との関連性に着眼をおき、これまでの抗がん剤濃度から腫瘍縮小効果と副作用発現予測のためのPK/PD解析の考え方にCTCを導入した統合型治療マネジメントとして、化学療法の有効性と安全性の両側面を同時に評価し、患者のQOLを維持するための非侵襲的治療マネジメントプラットフォームによるプレジジョン医療実現への展開を目指すことが本課題の目的である。

3. 研究の方法

1) ヒト膵癌由来 SUI-2 細胞移植膵癌モデルマウスに対する単回治療後の CTC 動態

KRAS 変異陽性ヒト膵癌細胞である SUI-2 細胞を 7~9 週齢の KSN/S1c. ノードマウスに SUI-2 細胞 cell line (5×10⁵/0.1mL)を皮下移植した後、腫瘍細胞の増大を観察し、膵癌マウスモデルを作製した。移植後 5 日後から、FOLFIRINOX 療法および、GnP 療法をおこない、FOLFIRINOX 療法 (5-fluorouracil 25 mg/kg, irinotecan 25 mg/kg, oxaliplatin 2.5 mg/kg, leucovorin 50 mg/kg) あるいは GnP 療法 (gemcitabine 100mg/kg, パクリタキセル 10 mg/kg) を単回治療にておこなった。採血は心臓穿刺にて約 0.2mL 血液を、投与直前、投与後 4, 7, 14 日後にリキッドバイオプシーとして行い、中西らの方法にて CTC を検出した。腫瘍組織から核分裂数について常法に従って測定した

2) ヒト膵癌由来 SUI-2 細胞移植膵癌モデルマウスに対する長期治療時の CTC 動態

SUI-2 細胞をノードマウスに移植した膵癌モデルマウスを用いて、長期治療実験での血中循環腫瘍細胞動態について検討した。

KRAS 変異陽性ヒト膵癌細胞である SUI-2 細胞を 7~9 週齢の KSN/S1c. ノードマウスに SUI-2 細胞 cell line (5×10⁵/0.1mL)を皮下移植した後、腫瘍細胞の増大を観察し、膵癌マウスモデルを作製した。移植後 5 日後から、FOLFIRINOX 療法および、GnP 療法をおこない、FOLFIRINOX 療法 (5-fluorouracil 25 mg/kg, irinotecan 25 mg/kg, oxaliplatin 2.5 mg/kg, leucovorin 50 mg/kg) を週に 2 回、あるいは GnP 療法 (gemcitabine 100mg/kg, パクリタキセル 10 mg/kg) を週に 1 回、10 週間にわたって静脈内投与した。投与直前に心臓穿刺にて約 0.2mL 血液を採取し、中西らの方法に従って CTC を検出した。治療効果は腫瘍径より算出した腫瘍体積にて評価し、原発巣における腫瘍組織を摘出して組織学的観察を行った。

4. 研究成果

1) ヒト膀胱癌由来 SUIT-2 細胞移植膀胱癌モデルマウスに対する単回治療後の CTC 動態
 CTC 数は FFX 及び GnP 投与後一過性に増加し、約 7 日目にピークを示した。単回投与後における核分裂は、GnP 投与群と比較して FFX 投与群の方が強く抑制され、薬剤感受性の違いが示唆された。CTC は化学療法時において薬剤感受性を反映し、治療効果のモニタリングに有用であると考えられた。(図 1 および 2)

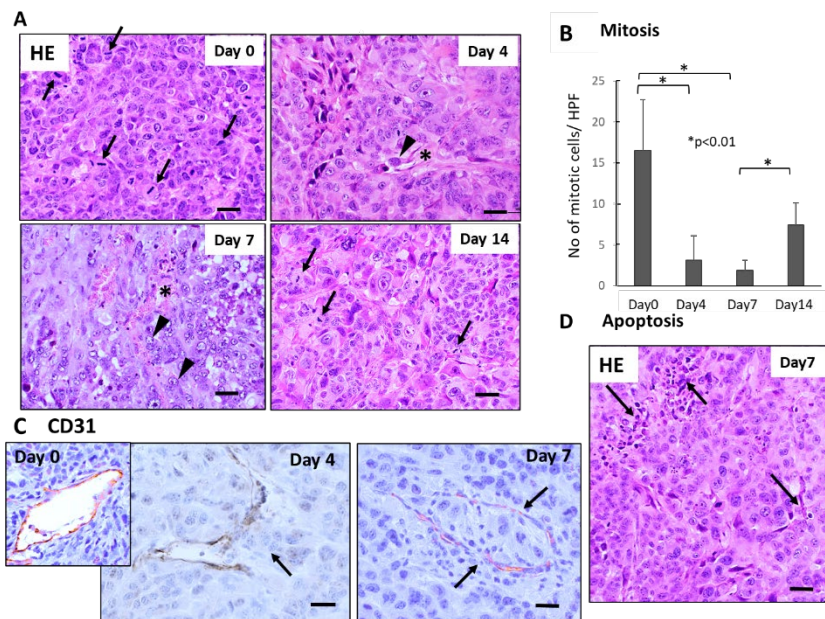


図 1. FFX 治療後の原発腫瘍組織の組織学的変化. A: ヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色. B: 有糸指数の逐次解析: FFX 治療後の 0 日、4 日、7 日、および 14 日の期間で、有糸分裂中の腫瘍細胞数/高倍率視野 (HPF). C: CD31 免疫染色. D: アポトーシス腫瘍細胞とクラスター

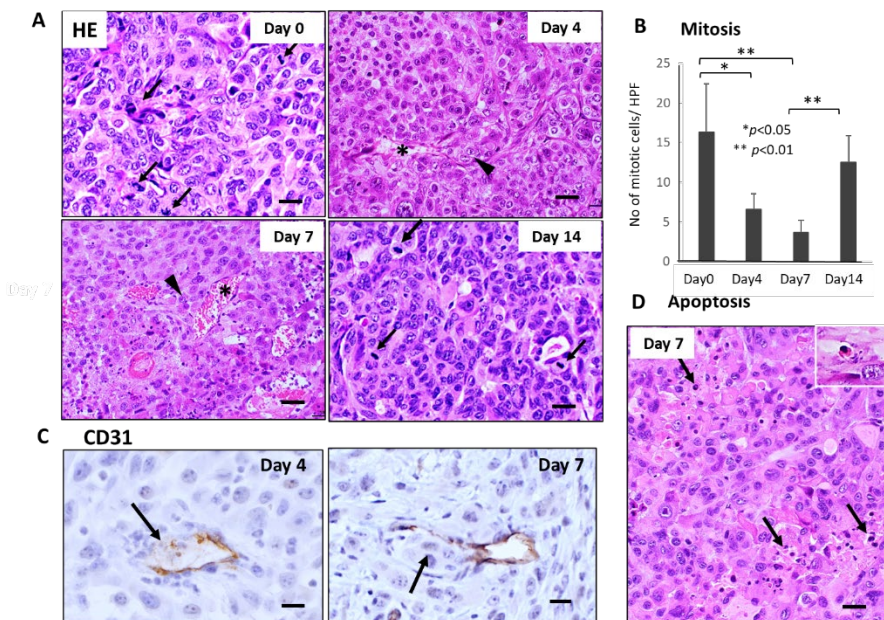


図 2. FFX 治療後の原発腫瘍組織の組織学的変化. A: ヘマトキシリン・エオシン (HE) 染色. B: 有糸指数の逐次解析: FFX 治療後の 0 日、4 日、7 日、および 14 日の期間で、有糸分裂中の腫瘍細胞数/高倍率視野 (HPF). C: CD31 免疫染色. D: アポトーシス腫瘍細胞とクラスター

2) ヒト膵癌由来 SUIT-2 細胞移植膵癌モデルマウスに対する長期治療時の CTC 動態
 薬物投与後の CTC 数は、control 群と比較して、FOLFINOX 療法群と GnP 療法群ともに 1-2 週間後に一過性に増加していた。FOLFINOX 療法群と GnP 療法群との CTC 数のピーク値を比較すると、FOLFINOX 療法群の方が約 4.5 倍有意に高かった。また、腫瘍体積推移曲線の傾きから腫瘍増殖抑制効果を比較したところ、GnP 療法群と比べて、FOLFINOX 療法群の方が高い治療効果を示していた。これらの結果から、薬物投与後の CTC 数の一過性の増加は、薬物の抗腫瘍活性と関連していることが示唆された。膵癌化学療法の開始早期に観測される CTC 数は、原発腫瘍に対する治療効果を反映する有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。(図 3)

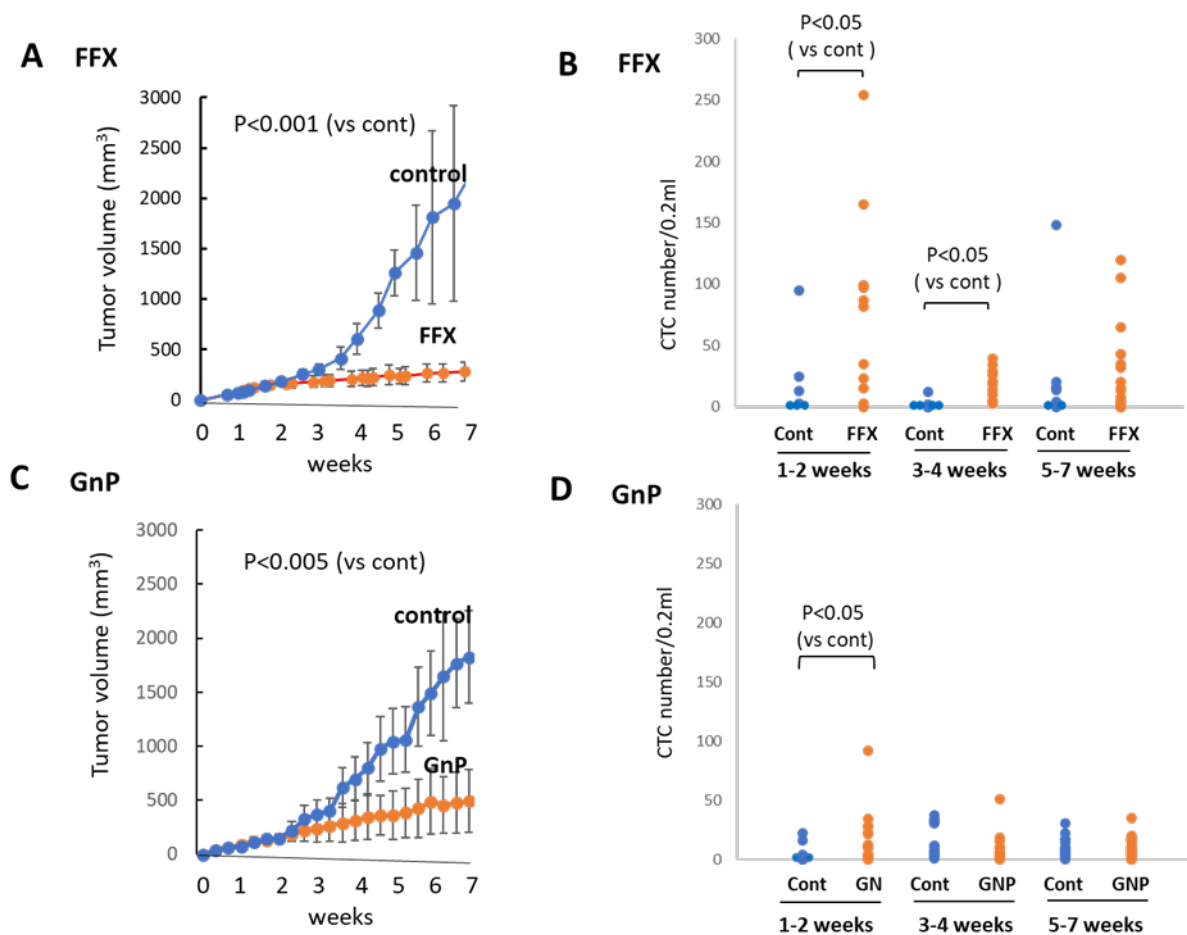


図 3. 長期間での FFX および GnP 化学療法中の腫瘍体積と CTC 数の変化

以上のことから、本課題では、膵癌化学療法施行時の CTC の時間的推移について、ヒト膵癌由来 SUIT-2 細胞含有 xenograft マウスモデルに対する GnP 治療群と無処置群の 2 群に分けて、週一回投与を 9 週間にわたる長期治療時の CTC 動態を検討した。その結果、CTC 数は治療回毎に一過性の上昇を認めるものの、治療回数に伴って CTC 数が減少する推移傾向がみとめられた。これは、FOLFIRINOX 療法においても同様であり、治療効果を反映するシグナルと考えられた。一方で、無処置群においては、治療期の後半以降において CTC 数の上昇傾向が示され、病態の進行状態を示すことが認められた。さらに *in vitro* での腫瘍組織の観察結果から、治療初期と後期では、初期において組織内の細胞分裂が抑制されていたものが治療後期において細胞分裂部分が増加し、壊死部分と分裂部分が混在する不均一性を示していた。このことは、治療直後では、薬剤による細胞への分裂抑制効果によって血液中へ CTC として一過性に増加することが認められたことと一致し、治療直前までに分裂が再開され、これらの現象が治療回数とともに同時に腫瘍組織内に認められた結果であることが考察される。従って、この CTC 推移に関する抗癌剤との数理学的モデル確立によって、検出された CTC 数から治療効果を予測し得ることで、抗がん剤の用量設定の適正化の一助となることが考えられた。今後は、これまでの抗がん剤濃度と治療効果および副作用である末梢神経障害発現に関する PK/PDTD モデルと組み合わせた、リキッドバイオオプシーによる統合的 PK/PDTD モデル構築による CTC 数から治療効果を予測を可能とする精度の高い治療管理システムへと完成させる予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6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 1件）

1. 著者名 KOBUCHI SHINJI, TSUDA MOTOI, OKAMURA MAKI, NAKAMURA TAKANORI, ITO YUKAKO	4. 巻 43
2. 論文標題 A Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Model Predicts Uracil-tegafur Effect on Tumor Shrinkage and Myelosuppression in a Colorectal Cancer Rat Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1121 ~ 1130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.16257	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 Kobuchi Shinji, Matsui Megumi, Ito Yukako	4. 巻 52
2. 論文標題 Predictive marker for exposure-driven haematological toxicity of tegafur-uracil and proposed modified-dosage regimen by pharmacometric approach in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Xenobiotica	6. 最初と最後の頁 697 ~ 706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00498254.2022.2142696	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 Kobuchi Shinji, Kanda Naoya, Okumi Taichi, Kano Yuma, Tachi Himawari, Ito Yukako, Sakaeda Toshiyuki	4. 巻 52
2. 論文標題 Comparing the pharmacokinetics and organ/tissue distribution of anti-methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> agents using a rat model of sepsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Xenobiotica	6. 最初と最後の頁 583 ~ 590
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00498254.2022.2098201	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 Sakai Shuhei, Kobuchi Shinji, Ito Yukako, Sakaeda Toshiyuki	4. 巻 46
2. 論文標題 A Physiologically Based Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model for Capecitabine in Colorectal Cancer Rats: Simulation of Antitumor Efficacy at Various Administration Schedules	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics	6. 最初と最後の頁 301 ~ 315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13318-021-00674-4	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 Kobuchi Shinji, Kai Miyu, Ito Yukako	4. 巻 13
2. 論文標題 Population Pharmacokinetic Model-Based Evaluation of Intact Oxaliplatin in Rats with Acute Kidney Injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 6382 ~ 6382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13246382	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 Sakai Shuhei, Kobuchi Shinji, Ito Yukako, Sakaeda Toshiyuki	4. 巻 111
2. 論文標題 Assessment of Drug-drug Interaction and Optimization in Capecitabine and Irinotecan Combination Regimen using a Physiologically Based Pharmacokinetic Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical Sciences	6. 最初と最後の頁 1522 ~ 1530
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xphs.2021.12.021	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22件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 高田和明, 河淵真治, 伊藤由佳子, 栄田敏之
2. 発表標題 SOX療法時の腎障害に対する至適用量の検討
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 柴田詩歩, 北本隆晃, 佐竹智規, 宇野りつ夏, 河淵真治, 伊藤由佳子, 栄田敏之
2. 発表標題 SOX療法施行時におけるオキサリプラチンの後根神経節への移行性
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名	Kawakita Amiri, Ito Yukako, Kobuchi Shinji, Jonan Shizuka, Amagase Kikuko, Sakaeda Toshiyuki and Nakanishi Hayao
2. 発表標題	Sequential detection of circulating tumor cells by liquid biopsy after long-term therapy in pancreatic cancer mice
3. 学会等名	第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年	2022年～2023年

1. 発表者名	Tsukushi Yasuhito, Kobuchi Shinji, Ito Yukako, Sakaeda Toshiyuki
2. 発表標題	Pharmacokinetic/toxicodynamic modeling to elucidate the roles of dorsal root ganglion neuron in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy
3. 学会等名	日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年	2022年～2023年

1. 発表者名	Kouno Michi, Tanaka Takumi, Kobuchi Shinji, Sakaeda Toshiyuki, Ito Yukako
2. 発表標題	Explorative study for dose limiting factor in acute kidney injury during SOX treatment by population pharmacokinetic approach
3. 学会等名	日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年	2022年～2023年

1. 発表者名	Mizumoto Moe, Kobuchi Shinji, Sakaeda Toshiyuki, Ito Yukako
2. 発表標題	Role of uracil and dihydrouracil plasma ratio as a fluoropyrimidine-related toxicity biomarker in FOLFIRINOX treatment to pancreatic cancer model rats
3. 学会等名	日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年	2022年～2023年

1. 発表者名 Taraki Moe, Kobuchi Shinji, Sakaeda Toshiyuki, Ito Yukako
2. 発表標題 Alternative proposal of dose reduction method of capecitabine for cancer patients with pre-existing chronic kidney disease
3. 学会等名 日本薬物動態学会第37回年会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 三井和樹、水本萌、河淵真治、栄田敏之、伊藤由佳子
2. 発表標題 FOLFIRINOX療法の骨髄抑制に関する薬物動態 / 毒性薬力学的評価
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会 / 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 上浦順子、河淵真治、栄田敏之、伊藤由佳子
2. 発表標題 がん診療時の急性腎障害発症によるcapecitabine体内動態の変動
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会 / 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 池本生、河淵真治、栄田敏之、伊藤由佳子
2. 発表標題 SOX療法時におけるオキサリプラチンの後根神経節中への移行性と概日リズムとの関連性
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会 / 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 田中拓実、河淵真治、伊藤由佳子、栄田敏之
2. 発表標題 急性腎障害発症が及ぼすSOX (S-1 + オキサリプラチン)療法の予後への影響
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会 / 第43回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 上田竣太、河淵真治、伊藤由佳子、西田健太郎、栄田敏之.
2. 発表標題 後根神経節中オキサリプラチン分布に対する日内変動の影響
3. 学会等名 日本薬学会第141年会, 広島(オンライン開催), 2021. 3
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 松居祐貴, 井上絵莉子, 伊藤由佳子, 河淵真治, 中西速夫, 栄田敏之.
2. 発表標題 FOLFIRINOX療法時の血中循環腫瘍細胞を導入した薬物動態学 - 薬力学的評価法の検討,
3. 学会等名 日本薬学会第141年会, 広島(オンライン開催), 2021. 3
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 山本彩音, 河淵真治, 伊藤由佳子, 栄田敏之.
2. 発表標題 母集団薬物動態解析に基づくTS-1ベース化学療法時の慢性腎障害マネジメントの検討,
3. 学会等名 日本薬学会第141年会, 広島(オンライン開催), 2021. 3
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Kitamoto Takaaki; Kobuchi Shinji; Ito Yukako; Sakaeda Toshiyuki.
2. 発表標題 Risk management of peripheral neuropathy by platinum localization in dorsal root ganglion neurons with FOLFIRINOX,
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021.9.
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 Morita Atsuko; Ito Yukako; Kobuchi Shinji; Jonan Shizuka; Amagase Kikuko; Sakaeda Toshiyuki; Nakanishi Hayao.
2. 発表標題 Utility of circulating tumor cells for GEM+nab-PTX therapy in pancreatic cancer xenograft model mice,
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021.9.
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 Uno Ritsuka; Kobuchi Shinji; Ito Yukako; Sakaeda Toshiyuki.
2. 発表標題 Pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to predict paclitaxel-induced peripheral neuropathy in pancreatic cancer rats.,
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021.9.
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 Sakai Shuhei; Kobuchi Shinji; Ito Yukako; Sakaeda Toshiyuki.
2. 発表標題 Physiologically based pharmacokinetic model for drug-drug interaction in XELIRI regimen,
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会, 横浜, 2021.9.
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 佐竹智規, 河淵真治, 伊藤由佳子, 栄田敏之.
2. 発表標題 母集団薬物動態解析によるTS-1投与後の5-fluorouracilの日内変動の評価,
3. 学会等名 第71回日本薬学会関西支部総会・大会, 東大阪(オンライン開催), 2021.10.
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 木村寿々奈, 河淵真治, 伊藤由佳子, 栄田敏之
2. 発表標題 .FOLFIRINOX療法時の末梢神経障害リスクマネジメントに対するmodeling and simulationの利活用,
3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会, 仙台, 2021.12.
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 高田和明, 河淵真治, 伊藤由佳子, 栄田敏之.
2. 発表標題 SOX療法時の腎障害に対する至適用量の検討
3. 学会等名 , 日本薬学会第142年会, 愛知(オンライン開催), 2022.3.
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 柴田詩歩, 北本隆晃, 佐竹智規, 宇野りつ夏, 河淵真治, 伊藤由佳子, 栄田敏之.
2. 発表標題 SOX療法施行時におけるオキサリプラチンの後根神経節への移行性,
3. 学会等名 日本薬学会第142年会, 愛知(オンライン開催), 2022.3.
4. 発表年 2021年～2022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
---------	---------