

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08741

研究課題名(和文) 循環腫瘍細胞を標的とした血液モニタリングシステムの実用化

研究課題名(英文) Clinical application of the blood monitoring system in accordance with genomic information of circulating tumor cells

研究代表者

宮倉 安幸 (Miyamura, Yasuyuki)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50306122

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)：胃癌組織のHER2蛋白発現は不均一であり、組織が腫瘍の特徴を十分捉えていない可能性がある。そこで循環腫瘍細胞(CTC)の特徴を加味した治療戦略の有用性を検討した。切除不能胃癌患者27人を対象とし、HER2組織陽性群の13人(A群)には化学療法とHER2阻害薬が投与された。HER2組織陰性患者は14人でCTC陽性群が8人(B群)、CTC陰性群が6人(C群)であった。14人には化学療法のみが投与された。無増悪生存期間はA群が15.7ヶ月、B群が7.0ヶ月、C群が未到達であった( $p=0.008$ )。B群の治療成績は不良で、CTCでHER2陽性という特徴を鑑みるとHER2阻害薬の適応拡大が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は腫瘍のゲノムプロファイルがその進展・転移、治療の過程で変化する事に注目し、ゲノムプロファイルのモニタリングとその情報に基づく癌治療戦略の構築を進めてきた。循環腫瘍細胞(CTC)は極めて微量ではあるが、その情報量は多い。また、癌細胞そのものを抽出できるため、遺伝子異常のみならず蛋白発現の変化などの細胞変化を解析することが可能である。我々はマイクロ流路チップ内での繰り返しソーティング技術を用いる事で、高純度のCTCを分取することが可能となった。CTCを標的とした血液モニタリングシステムは循環腫瘍DNAの情報を補完し、組織パネルに変わる新たなプラットフォームとしてその実用化が期待される。

研究成果の概要(英文)：Despite success in the HER2 targeted therapies for metastatic gastric cancer patients, the conventional assessment of HER2 status in tumor tissue specimens is still under debate. In this study, significance of HER2 status on circulating tumor cells (CTCs) was elucidated. Thirteen patients with HER2 positive in tumor tissues (Group A) were treated with cytotoxic agents and HER2-targeted therapy while 14 patients were negative and treated with cytotoxic agents. In these 14 patients, 8 patients showed HER2 positive (Group B) and 6 patients displayed HER2 negative (Group C) on CTCs. HER2 expression was associated with EMT ( $p=0.024$ ). Increased expression of EMT was seen in Group A and B. Group B showed worse PFS than others (7.0 M in B and 15.7 M in A plus C,  $p=0.008$ ), suggesting Group B could be a candidate for expand indication of HER2 inhibitor. Monitoring of circulating tumor cells leads to the expand indication of the HER2 targeted therapies in patients with metastatic gastric cancer.

研究分野：消化器外科

キーワード：血液モニタリング ゲノムプロファイリング 血中循環腫瘍細胞 循環腫瘍DNA 切除不能胃癌 HER2阻害薬 適応拡大

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

我々は腫瘍のゲノムプロファイルがその進展・転移、治療の過程で変化する事に注目し、ゲノムプロファイルのモニタリングとその情報に基づく癌治療戦略の構築を進めてきた。そのプラットフォームに用いたのが「Digital PCR」で、血中の循環遊離 DNA の検出を可能とした。そこから循環腫瘍 DNA ( ctDNA ) を特定し、癌のリアルタイムな変化をモニタリングする事によって、癌の存在診断や治療の効果判定、薬剤の選択など臨床的有用性を報告してきた。一方、ctDNA モニタリングの限界も明らかになった。癌ゲノムの一断片である ctDNA ではゲノムプロファイリングのための十分な情報が得られない。また血液の DNA 情報と組織の蛋白発現の解離を認める症例では、翻訳過程での修飾によるものなのか、経時的な変化なのか解釈が難しく、治療薬剤の選択にも影響を及ぼす。経時的モニタリングが容易で、蛋白情報を含む包括的ゲノム解析が可能とする新たなアプローチが求められている。

血中循環腫瘍細胞 ( CTC ) は腫瘍ゲノムのモニタリングの対象として古くから研究されてきたが、極めて微量でまた壊れやすいため、その回収は困難で臨床応用は難しいとされた。我々はこの CTC の回収にマイクロ流路チップ内での繰り返しソーティングによる濃縮方法を用いる事で、ゲノム解析に十分な高純度の CTC を分取することが可能となった。本研究では、CTC を標的とした血液モニタリングの有用性を検証する。

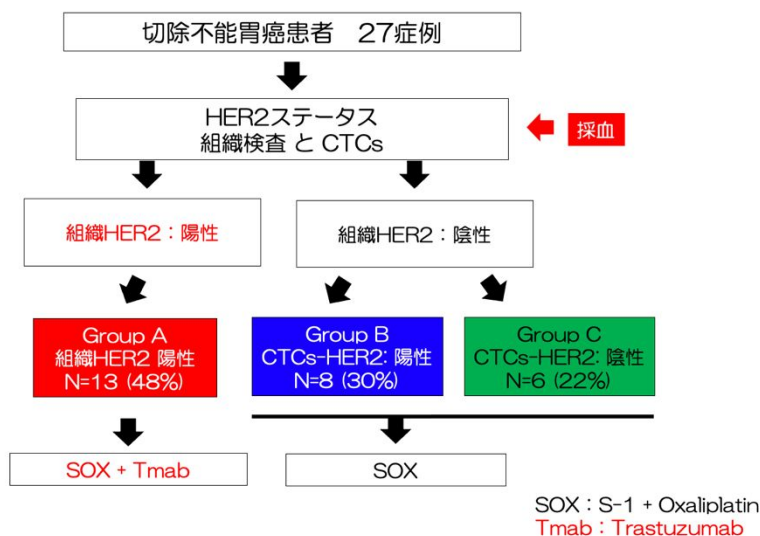
### 2. 研究の目的

切除不能胃癌に対する HER2 阻害薬の治療効果は一定の成果が得られているが、組織を用いた評価方法には問題が残る。胃癌組織の HER2 蛋白発現は不均一なため、検索した組織切片が腫瘍の特徴を十分捉えていない可能性が考えられる。そこで循環腫瘍細胞 ( CTC ) を利用し、組織では捉えられない特徴を血液で俯瞰できないか検討した。

### 3. 研究の方法

切除不能胃癌患者 27 人を対象とし、On-chip sort system を用いて CTC を検出した。CTC の HER2 蛍光強度の閾値を 50 とし、それ以上を CTC HER2 陽性とした。さらにサイトケラチンとビメンチンの蛍光強度から上皮間葉系移行 ( EMT ) を算出し、転移形成能を評価

図 1 : 症例の振り分けと治療

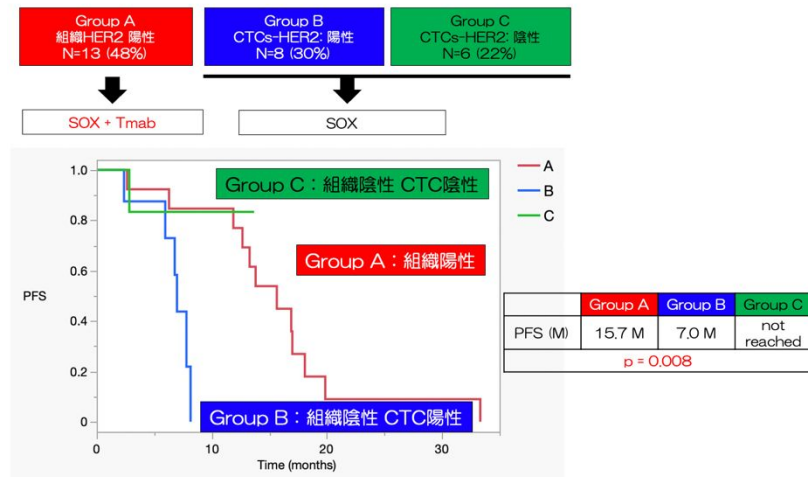


した。また、DNA を抽出し、次世代シーケンサーでがん関連遺伝子変異を抽出した。HER2 組織陽性群は 13 人 ( A 群、48% ) で、化学療法と HER2 阻害薬が投与された ( 図 1 )。

#### 4. 研究成果

HER2 組織陰性患者は 14 人 (52%) でそのうち CTC 陽性群が 8 人 (B 群、30%)、で CTC 陰性群が 6 人 (C 群、22%) であった。これらの患者には化学療法のみが投与された。各群の無増悪生存期間 (PFS) は A 群が 15.7 ヶ月、B 群が 7.0 ヶ月、C 群が未到達であった ( $p=0.008$ 、図 2)。CTC による遺伝子解析では、胃

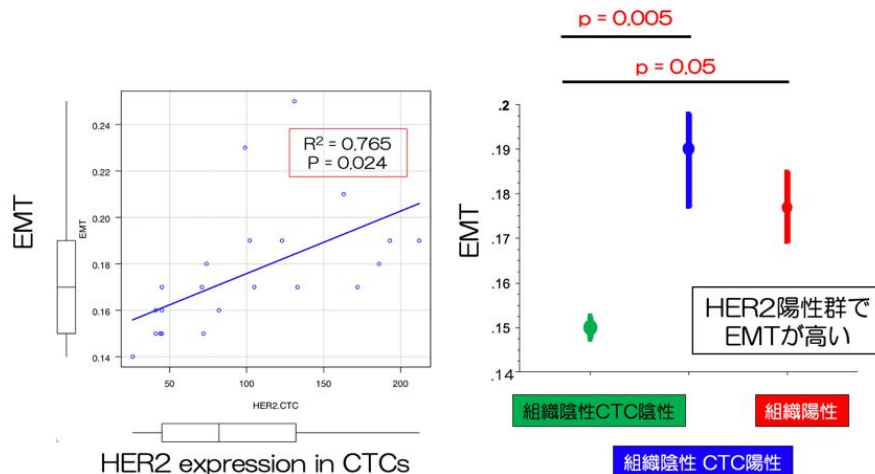
図 2：無増悪生存期間の比較



Group B が予後に影響している

癌や JAK-STAT に関連する遺伝子変異において Group C に比べて Group A 及び Group B に多く遺伝子変異を認めた。CTC の HER2 発現の強度は EMT の程度と相関し ( $p=0.024$ 、図 3 左)、組織や CTC を問わず HER2 陽性群 (A 群と B 群) では、組織と CTC 共に陰性群 (C 群) に比べて有意に EMT が進んでおり (図 3 右)、転移形成能が高い事が示唆される。HER2 陽性群は染色体不安定性を有し、様々な遺伝子変異を持つ可能性があり、こうした分子学的特徴が Group B の予後に関わっている可能性が考えられた。B 群の HER2 CTC 陽性群で治療成績が不良で、治療介入の必要性が示唆され、HER2 阻害薬の適応拡大が期待される。CTC 解析によるリアルタイムの血液モニタリングは有用と考えられた。

図 3：HER2発現と EMTの比較



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Watanabe Fumiaki, Suzuki Koichi, Aizawa Hidetoshi, Endo Yuhei, Takayama Yuji, Kakizawa Nao, Kato Takaharu, Noda Hiroshi, Rikiyama Toshiki	4. 巻 13
2. 論文標題 Circulating tumor DNA in molecular assessment feasibly predicts early progression of pancreatic cancer that cannot be identified via initial imaging	5. 発行年 2023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/s41598-023-31051-7	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 Watanabe Fumiaki, Suzuki Koichi, Noda Hiroshi, Rikiyama Toshiki	4. 巻 28
2. 論文標題 Liquid biopsy leads to a paradigm shift in the treatment of pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 6478 ~ 6496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v28.i46.6478	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 Abe Iku, Suzuki Koichi, Kimura Yasuaki, Tamaki Sawako, Endo Yuhei, Ichida Kosuke, Muto Yuta, Watanabe Fumiaki, Saito Masaaki, Konishi Fumio, Rikiyama Toshiki	4. 巻 12
2. 論文標題 Enhancement of DNA hypomethylation alterations by gastric and bile acids promotes chromosomal instability in Barrett's epithelial cell line	5. 発行年 2022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/s41598-022-25279-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 Tamaki Sawako, Suzuki Koichi, Abe Iku, Endo Yuhei, Kakizawa Nao, Watanabe Fumiaki, Saito Masaaki, Tsujinaka Shingo, Miyakura Yasuyuki, Ohta Satoshi, Tago Kenji, Yanagisawa Ken, Konishi Fumio, Rikiyama Toshiki	4. 巻 12
2. 論文標題 Overexpression of satellite RNAs in heterochromatin induces chromosomal instability and reflects drug sensitivity in mouse cancer cells	5. 発行年 2022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/s41598-022-15071-3	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 Watanabe Fumiaki, Suzuki Koichi, Noda Hiroshi, Rikiyama Toshiki	4. 巻 28
2. 論文標題 Liquid biopsy leads to a paradigm shift in the treatment of pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 6478 ~ 6496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v28.i46.6478	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 Ishikawa Hideki, Hayakawa Morisada, Baatartsogt Nemekhbayar, Kakizawa Nao, Ohto-Ozaki Hiromi, Maruyama Takashi, Miura Kouichi, Suzuki Koichi, Rikiyama Toshiki, Ohmori Tsukasa	4. 巻 12
2. 論文標題 I B regulates the development of nonalcoholic fatty liver disease through the attenuation of hepatic steatosis in mice	5. 発行年 2022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/s41598-022-15840-0	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 Endo Yuhei, Suzuki Koichi, Kimura Yasuaki, Tamaki Sawako, Aizawa Hidetoshi, Abe Iku, Watanabe Fumiaki, Kato Takaharu, Saito Masaaki, Futsuhara Kazushige, Noda Hiroshi, Konishi Fumio, Rikiyama Toshiki	4. 巻 60
2. 論文標題 Genome-wide DNA hypomethylation drives a more invasive pancreatic cancer phenotype and has predictive occult distant metastasis and prognosis potential	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	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/ijo.2022.5351	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 Tamaki Sawako, Ishikawa Hideki, Suzuki Koichi, Kimura Yasuaki, Maemoto Ryo, Abe Iku, Endo Yuhei, Kakizawa Nao, Watanabe Fumiaki, Futsuhara Kazushige, Saito Masaaki, Tsujinaka Shingo, Miyakura Yasuyuki, Rikiyama Toshiki	4. 巻 16
2. 論文標題 Prophylactic use of pegfilgrastim enables the management of severe neutropenia without dose delays in patients with metastatic colorectal cancer treated with TAS?102 plus bevacizumab	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular and Clinical Oncology	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/mco.2022.2536	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 Tamaki Sawako, Ishikawa Hideki, Suzuki Koichi, Kimura Yasuaki, Maemoto Ryo, Abe Iku, Endo Yuhei, Kakizawa Nao, Watanabe Fumiaki, Futsuhara Kazushige, Saito Masaaki, Tsujinaka Shingo, Miyakura Yasuyuki, Rikiyama Toshiki	4. 巻 16
2. 論文標題 Prophylactic use of pegfilgrastim enables the management of severe neutropenia without dose delays in patients with metastatic colorectal cancer treated with TAS?102 plus bevacizumab	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular and Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mco.2022.2536	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 Machida Erika, Tsujinaka Shingo, Kakizawa Nao, Miyakura Yasuyuki, Suzuki Koichi, Rikiyama Toshiki	4. 巻 71
2. 論文標題 Early peritoneal metastasis after laparoscopic incisional hernia repair secondary to colon cancer resection: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Medicine and Surgery	6. 最初と最後の頁 103000 ~ 103000
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amsu.2021.103000	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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鈴木 浩一, 木村 恭彰, 田巻 佐和子, 阿部 郁, 遠藤 裕平, 市田 晃佑, 武藤 雄太, 渡部 文昭, 齊藤 正昭, 力山 敏樹
2. 発表標題 転移性胃癌患者における循環腫瘍細胞を用いた血液モニタリングシステムの臨床応用(Clinical application of the blood monitoring system using circulating tumor cells in metastatic gastric cancer patients)(英語)
3. 学会等名 日本癌学会総会記事(0546-0476)81回 Page MS3-4(2022.09)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤 裕平, 鈴木 浩一, 木村 恭彰, 田巻 佐和子, 阿部 郁, 渡部 文昭, 加藤 高晴, 齊藤 正昭, 野田 弘志, 力山 敏樹
2. 発表標題 ゲノム全域のDNA異常低メチル化は染色体不安定性を介して膵癌の浸潤能を増加させ潜在性転移及び予後を予測する(DNA hypomethylation makes pancreatic cancer more invasive and has predictive occult metastasis and prognosis potential)(英語)
3. 学会等名 日本癌学会総会記事(0546-0476)81回 Page P-1096(2022.09)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田巻 佐和子, 鈴木 浩一, 木村 恭彰, 阿部 郁, 遠藤 裕平, 渡部 文昭, 齊藤 正昭, 力山 敏樹
2. 発表標題 染色体不安定生に関連するサテライトRNA過剰発現による薬剤感受性の検討(Satellite RNAs-induced chromosomal instability reflects on drug sensitivity in mouse cancer cells.)(英語)
3. 学会等名 日本癌学会総会記事(0546-0476)81回 Page P-1068(2022.09)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田巻 佐和子, 鈴木 浩一, 木村 恭彰, 阿部 郁, 遠藤 裕平, 渡部 文昭, 齊藤 正昭, 力山 敏樹
2. 発表標題 PTX+RAM療法が与えるNivolumab療法の治療効果
3. 学会等名 日本消化器外科学会総会77回 Page P100-2(2022.07)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田巻 佐和子, 鈴木 浩一, 木村 恭彰, 阿部 郁, 遠藤 裕平, 辻仲 眞康, 宮倉 安幸, 力山 敏樹
2. 発表標題 ペグフィルグラスチムを用いたTAS-102+ペバシズマブの併用療法の副作用マネジメントについての検討
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会抄録集122回 Page DP-147-7(2022.04)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤 裕平, 鈴木 浩一, 木村 恭彰, 田巻 佐和子, 相澤 栄俊, 阿部 郁, 前田 晋平, 渡部 文昭, 齊藤 正昭, 野田 弘志, 力山 敏樹
2. 発表標題 ゲノム全域のDNA異常低メチル化は染色体不安定性を介して膵癌の浸潤能を増加させる
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会抄録集122回 Page DP-118-4(2022.04)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡部 文昭, 鈴木 浩一, 相澤 栄俊, 遠藤 裕平, 前田 晋平, 加藤 高晴, 野田 弘志, 力山 敏樹
2. 発表標題 KRAS変異循環腫瘍DNAを利用したCA19-9のcutoffで肺癌患者の予後を予測する
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会抄録集122回 Page SF-033-3(2022.04)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柿澤奈緒、鈴木浩一、田巻佐和子、石川英樹、菊地 望、福井太郎、辻仲真康、宮倉安幸、力山敏樹.
2. 発表標題 大腸癌患者の化学療法中の血漿中VEGF-A値の変動とその意義
3. 学会等名 第76回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2021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	鈴木 浩一  (Suzuki Koichi)  (70332369)	自治医科大学・医学部・教授   (32202)	

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