

令和 6 年 5 月 15 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2023

課題番号：21K20799

研究課題名（和文）ジェノタイプ層別化アプローチによる膵癌化学療法病勢評価の最適化

研究課題名（英文）Optimization of pancreatic cancer chemotherapy disease assessment using a genotype stratification approach

研究代表者

田中 晴祥（TANAKA, Haruyoshi）

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：80793504

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：CA19-9およびDUPAN-2の発現量は、FUT2/3の機能に依存するため、正常化判定法の開発が急務となっている。2012年から2022年の間に術前治療後に外科的切除を行った膵癌症例345例のゲノムDNAを対象にTaqMan PCRを施行し、341例のFUT2/3の遺伝子型の決定に成功し、これを基に腫瘍マーカー遺伝子型モデル（TMGモデル）を構築した。従来の単一カットオフモデルでのマーカー高値のハザード比は1.61（ $P = 0.12$ ）であったのに対して、TMGモデルの予後層別能はTMG高値のハザード比は4.47（ $P < 0.01$ ）と格段に改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は進行した状態で診断され、難治がんの一つである。進行膵癌ではその大半で術前治療の有効性が示され、術前治療中の手術適応の適切な判断をすることの重要性が増している。腫瘍マーカーの正常化をはじめとした生物学的マーカーが良い指標となる可能性が指摘されている。現在、膵癌で汎用されているCA19-9およびDUPAN-2の発現量は、FUT2およびFUT3の機能に依存することが分かっており、より正確な腫瘍マーカー正常化判定法の開発が膵癌患者の予後延長のため急務となっている。TMGモデルの予後層別能は非常に高いことが判明し、今後の集学的治療と膵癌患者予後延長に貢献した。本研究は欧文学術誌に投稿中である。

研究成果の概要（英文）：Background: Although preoperative therapy for pancreatic cancer (PC) is increasingly performed, evidence on optimal patient selection for surgery remains limited. While normalization of these two tumor markers is proposed for the indication, FUT2/3 genotypes can affect their values. Methods: We performed TaqMan PCR to genotype FUT2/3 on 345 PC patients who underwent surgery after preoperative therapy between 2012 and 2021. We evaluated the tumor markers' fluctuations to develop a novel prognostic model. Results: Genotyping was successful in 341. Novel prognostic model (tumor marker gene model; TMG model) successfully stratified their prognosis (HR = 4.47, $P < 0.01$) than conventional uniform cutoff model (HR = 1.61, $P = 0.12$). New cutoff levels of each FUT2/3 status had a better stratifying ability for postoperative survival than the traditional uniform cutoff approach among initially unresectable PC patients.

研究分野：消化器外科学

キーワード：膵癌 FUT2 FUT3 CA19-9 DUPAN-2 遺伝子型 予後予測モデル 術前治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

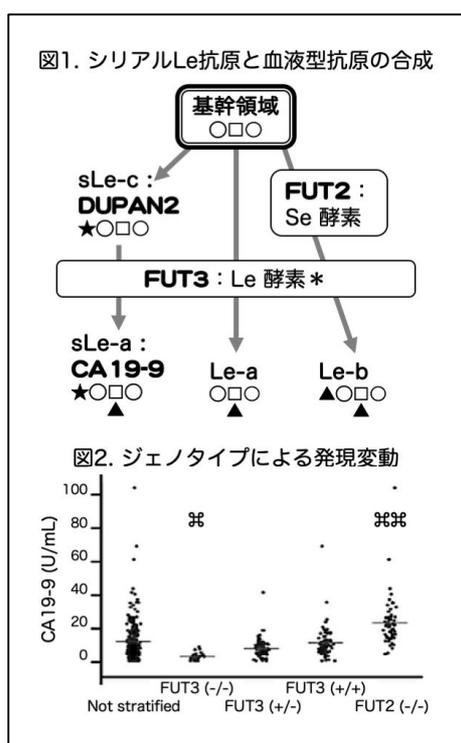
膵癌は多くが進行癌の状態で見られ、5年生存率は10%前後と、最も制御困難な癌腫のひとつである。しかし、近年では FOLFIRINOX 等の術前化学療法や放射線療法をはじめとした集学的治療により、切除が困難な症例(切除可能境界)のR0切除率が向上し(Turpin A, Cancers (Basel) 2020)、診断時に切除不能であっても切除が可能となる Conversion 手術症例も急速に増加している(Kunzmann V, Lancet Gastroenterol Hepatol 2021)。手術を含む集学的治療による予後改善への期待が高まる中、では「手術に向かう至適時期はいつなのか」、「どのような基準で手術の適応を判断すべきか」という点が膵癌の診療にあたる臨床医の新たな課題となっている。

治療効果判定および手術適応判断は、通常、腫瘍マーカーや画像評価などをもとに総合的に行われるが、この際腫瘍マーカーとして汎用されるのが CA19-9 である。CA19-9 は NS19-9 抗体に認識される糖鎖抗原であり、抗原決定部位は細胞膜表面のルイス A 糖鎖 (Lewis A antigen; 図 1. Le-a) にシアリル酸 (図 1) が付加したシアリルルイス A (sialyl Le-a; 図 1. sLe-a) である。sLe-a は CA19-9 前駆体 (sLe-c: 図 1. DUPAN2) にフコース (図 1) が付加されたものであるが、この反応には FUT3 遺伝子がコードする Le 酵素が必須である(図 1*)。FUT3 遺伝子のホモ接合体、つまりルイス式血液型 le/le 個体では、進行膵癌であっても CA19-9 は通常測定感度以下となる(図 2 ㊟)。一方、FUT2 のホモ接合体は、secretor (Se/Se もしくは Se/se) に対して non-secretor (se/se) と呼ばれ、健康人であっても CA19-9 値は高値を示す(図 2 ㊟㊟)(Abe et al. Clin Gastroenterol Hepatol 2020)。これら CA19-9 の発現変動を来すホモ接合体の出現頻度は過去の報告や日本人ゲノムデータベースから FUT2、FUT3 いずれも 1 割程度と考えられる。

このため、申請者の所属していた米国ジョンスホプキンス大学の早期膵癌診断研究室では古典的ともいえる CA19-9 などの血清腫瘍マーカーに再着目して研究をすすめている。FUT2/3 ジェノタイプをもとに CA19-9 の層別化基準値を設定することで、特異度を 95% 以上に保ったまま膵癌診断の感度が向上することを検証し報告した(Abe et al. Clin Gastroenterol Hepatol 2020)。申請者はこの「ジェノタイプ層別化アプローチ」を術前化学療法の病勢評価に応用することを着想した。

当教室の Sunagawa らの先行研究では、手術を企図して術前に化学療法を受ける患者において、術直前の CA19-9 が正常値かどうかは生命予後を十分に予測しえないという結論に至った。しかしこれは FUT2/3 のジェノタイプを考慮していないことが理由である可能性がある。申請者は、CA19-9 はジェノタイプを考慮することによってはじめて十分な予後予測ができる、またこれを DUPAN2 と組み合わせることにより、さらに優れた予後予測能を示し、これが化学療法を受けるすべての膵癌患者の手術適応指標になる、という仮説を立てた。

Abe らの研究の有望な結果を受け、現在ジョンスホプキンス大学ではオーダーメイド医療の



一環としてジェノタイプ層別化膵癌スクリーニング法の開発に関する前向き臨床研究が進行している。本邦においては、CA19-9 と DUPAN2 に関する後方視的研究が行われてからは、臨床応用に向けた研究はごく限られている (Narimatsu, et al. Cancer Res 1998, Kawa, et al. Br J Cancer 1991)。

2 . 研究の目的

申請者らの先行研究では、術前治療を行った症例を後方視的に検討し、CA19-9 よりもむしろその前駆体である DUPAN2 (図 1 参照) が治療効果判定の優れたバイオマーカーとなりうることを報告している (Sunagawa, Ann Surg 2019; 図 3; 一部改変)。しかし、CA19-9 の予後予測能が劣った背景には、FUT2/3 ジェノタイプによる正常値の差異が影響し、正確な判断・予測ができていなかった可能性がある。つまり、CA19-9 が低値をとる FUT3 バリエーション個体に対し、化学療法で CA19-9 正常化したからといって手術を行うことは拙速となりうる。反対に、CA19-9 が高値を取りうる non-secretor 個体には、CA19-9 が正常化せず、不要なまでに長期に化学療法を行ってしまう可能性もあると言える。

さらに、この先行研究では、CA19-9 が診断時から低値であった約 1 割の症例においては FUT3-null を疑い、検討から除外されている。よって、化学療法を受けるすべての膵癌患者についての結論は出ていない。また、進行癌であっても CA19-9 を含むいずれの腫瘍マーカーも陰性で病勢評価に難渋する例も少数ながら経験する。この原因のひとつとして FUT3-null 個体であることが予想されるが、FUT3-null など特定のバリエーション個体に特異的に上昇する糖鎖抗原が同定できれば病勢モニタリングだけでなく、膵癌の新規血清診断マーカーとしても活用することを目的とした。

3 . 研究の方法



FUT2/3 ジェノタイプングとして、術前に化学療法患者を施行した症例を対象に、全血もしくは切除検体より抽出済みのゲノム DNA を用いて、TaqMan PCR genotyping アッセイを行う。

予後予測モデルの構築として、ジェノタイプ別 CA19-9 と DUPAN2 とで予後予測モデルを構築し、R0 切除率や術後長期生存を予測できた可能性があるか、後方視的に検討する。

糖鎖抗原発現プロファイリングとして、上記 1. のジェノタイプング結果から、a) FUT3-null vs. wild 個体の血清、b) FUT3-null 個体で化学療法が奏功し、かつ長期生存した症例における治療前後間の血清、を対象に 2 ベンズアミドで蛍光標識した糖鎖サンプルを調整する。これらを質量分析器 (LC-MS/MS) を用いて網羅的糖鎖発現解析により糖鎖抗原発現パターンを比較し、FUT3-null 個体に特異的な新規糖鎖抗原マーカーを同定する。

新規糖鎖抗原マーカーの有用性の検証として、有望な糖鎖抗原マーカーについては、手術症例、非手術症例を問わず対象を拡大して新規糖鎖抗原マーカーとしての有用性を検証するとともに、さらに精度の高い予後予測モデルを構築する。

4 . 研究成果

本研究は申請者の異動に伴い、名古屋大学・富山大学・名古屋医療センターの多施設共同研究として行われた。一方、新規糖鎖抗原マーカーの開発については機器の違いに直面したこともあ

り、難航した。結果としては、CA19-9 と DUPAN-2 以上に有望な糖鎖抗原を同定することはできなかった。しかしながら、FUT3-null 症例では CA19-9 が低値である反面、DUPAN-2 が有意に高値であることが判明したため、CA19-9 と DUPAN-2 と FUT2/3 との解析で十分に予後予測モデルを構築することができるが見込まれた。このことから、当初の方針から変更し、多施設共同研究で症例数を増やし、既存のマーカーに加えてジェノタイピングにより層別化を行うことで、高精度の予後予測モデルを構築することとした。2012 年から 2022 年の間に術前治療後に外科的切除を行った膵癌症例 345 例のゲノム DNA を対象に TaqMan PCR を施行し、341 例の FUT2/3 の遺伝子型の決定に成功し、これを基に腫瘍マーカー遺伝子型モデル (TMG モデル) を構築した。従来の単一カットオフモデルでのマーカー高値のハザード比は 1.61 ($P = 0.12$) であったのに対して、TMG モデルの予後層別能は TMG 高値のハザード比は 4.47 ($P < 0.01$) と格段に改善した。

CA19-9 および DUPAN-2 の発現量は、FUT2/3 の機能に依存するため、正常化判定法の開発が急務となっている。2012 年から 2022 年の間に術前治療後に外科的切除を行った膵癌症例 345 例のゲノム DNA を対象に TaqMan PCR を施行し、341 例の FUT2/3 の遺伝子型の決定に成功し、これを基に腫瘍マーカー遺伝子型モデル (TMG モデル) を構築した。従来の単一カットオフモデルでのマーカー高値のハザード比は 1.61 ($P = 0.12$) であったのに対して、TMG モデルの予後層別能は TMG 高値のハザード比は 4.47 ($P < 0.01$) と格段に改善した。

膵癌は進行した状態で診断され、難治がんの一つである。進行膵癌ではその大半で術前治療の有効性が示され、術前治療中の手術適応の適切な判断をすることの重要性が増している。腫瘍マーカーの正常化をはじめとした生物学的マーカーが良い指標となる可能性が指摘されている。現在、膵癌で汎用されている CA19-9 および DUPAN-2 の発現量は、FUT2 および FUT3 の機能に依存することが分かっており、より正確な腫瘍マーカー正常化判定法の開発が膵癌患者の予後延長のため急務となっている。本研究により、TMG モデルの予後層別能は非常に高いことが分かり、今後の集学的治療と膵癌患者予後延長に大きく貢献した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名	田中晴祥, 大津智尚, 小林大悟, 山中雅也, 加藤吉康, 栗本景介, 田中伸孟, 梅田晋一, 猪川祥邦, 高見秀樹, 清水 大, 服部憲史, 神田光郎, 田中千恵, 林 真路, 中山吾郎, 小池聖彦, 小寺泰弘
2. 発表標題	腫瘍マーカーGenotype層別化アプローチをもちいた進行膵癌術前治療における予後予測モデルの開発
3. 学会等名	第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Haruyoshi Tanaka, Masamichi Hayashi, Daigo Kobayashi, Ayaka Yokoi, Masaya Yamanaka, Yoshiyasu Kato, Keisuke Kurimoto, Nobutake Tanaka, Yoshikuni Inokawa, Hideki Takami, Yasuhiro Kodera
2. 発表標題	Novel prognostic model based on genotype stratified tumor markers after neoadjuvant treatment for borderline resectable pancreatic cancer
3. 学会等名	第34回日本肝胆膵外科学会・学術集会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	Haruyoshi Tanaka, Daigo Kobayashi, Masamichi Hayashi, Ayaka Yokoi, Masaya Yamanaka, Yoshiyasu Kato, Keisuke Kurimoto, Nobutake Tanaka, Yoshikuni Inokawa, Hideki Takami, Yasuhiro Kodera
2. 発表標題	Novel genotype-based prognostic model using tumor markers after neoadjuvant treatment for resectable pancreatic cancer
3. 学会等名	第26回国際膵臓学会 / 第53回日本膵臓学会大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	田中晴祥, 小林大悟, 林 真路, 大津智尚, 山中雅也, 栗本景介, 田中伸孟, 高見秀樹, 猪川祥邦, 小寺泰弘
2. 発表標題	Borderline resectable膵がんに対する術前治療後 genotype層別化腫瘍マーカーに基づく予後予測モデルの開発
3. 学会等名	第16回膵癌術前治療研究会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名 酒井彩乃、田中晴祥、末永雅也、大津智尚、林 真路、猪川祥邦、渋谷和人、山口淳平、高見秀樹、藤井 努、江畑智希、小寺泰弘
2. 発表標題 FUT2/FUT3 遺伝子型判定による腫瘍マーカー正常化と癌個別化治療戦略
3. 学会等名 第56回制癌剤適応研究会
4. 発表年 2024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