

## 進行直腸癌治療における微小転移診断技術の開発

札幌医科大学 消化器・総合、乳腺・内分泌外科学  
浜部 敦史

### 1. 諸言

進行直腸癌は、大腸癌の中で特に予後不良な疾患で再発率が高いため、さまざまな治療（化学療法・放射線療法など）が開発されてきた。結果、直腸癌の最大の問題であった局所再発は制御可能となってきた。一方、肝臓・肺などの他臓器への遠隔転移再発が約3割の患者に発生し、解決すべき重要な問題として認識されている<sup>1)</sup>。画像で検出できない微小転移が時間経過と共に顕在化することが、直腸癌手術後に遠隔転移再発が発生する理由である。つまり、微小転移を高精度にできるだけ早く検出することが可能となれば、集学的治療の強度を上げる、術後補助化学療法などの治療選択を患者個別的に行うことが可能となり、微小転移を制御し、遠隔転移再発率を低減できると期待される。しかしながら、現在は直腸癌の微小転移を検出するための方法は確立されていない。

本研究では、直腸癌の微小転移に関わる新規因子を前向きに評価することで、高精度に微小転移を検出するための技術を確立することを目的とした。

### 2. 方法

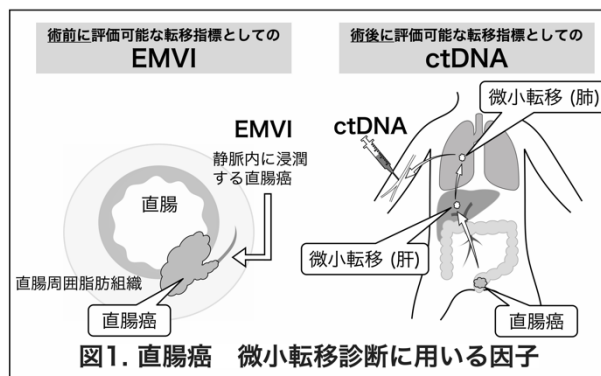
対象: 診断時 Stage II、III の進行直腸癌（腫瘍下端が肛門縁より 12cm 以下）

腫瘍評価項目: 3 年無病生存率

方法: 血液循環腫瘍 DNA（circulating tumor DNA : ctDNA）および MRI を用いて課題解決に取り組む（図 1）。

#### 2.1 ctDNA の測定

ctDNA は血液循環腫瘍 DNA で、画像検査で捉えることができない微量な癌病巣の存在を検出する。手術終了後の ctDNA により再発を早期に診断できる<sup>2)</sup>。ctDNA 評価に関して、原発巣の生検から QiaSeq（Human Colorectal Cancer Panel）（Qiagen 社）を用いて遺伝子変異解析を行う。得ら



れた結果から、末梢血血漿中の ctDNA 値を droplet digital PCR (ddPCR) にてフォローする。診断時、術前治療後、手術後の 3 点で ctDNA を評価する。

## 2.2 MRI 評価

高精細 MRI により、近年、直腸癌が連続性に脈管内へと浸潤する所見である extramural vascular invasion (EMVI) を評価可能で、遠隔転移リスクを予測できることが明らかとなった。われわれが行った研究でも EMVI は遠隔転移および側方リンパ節転移リスクと関連することが示されている<sup>3)</sup>。EMVI は直腸癌が微小転移を形成していく動的変化を捉えた所見であり、重要性が今後増すと考えられる<sup>4)</sup>。

## 2.3 複合評価

進行直腸癌に対する手術、周術期化学療法・放射線療法の経過において、ctDNA、EMVI を経時的に測定する。ctDNA、EMVI を複合的に評価することで微小転移検出精度向上の課題に取り組む。

## 3.結果

「MRI および ctDNA を用いた複合評価による進行直腸癌の再発リスク診断に関する前向き観察研究」(UMIN000042588)を計画し、2020 年 11 月より症例登録を開始している。診断時の内視鏡下生検による組織検体を用いて、次世代シーケンサーを利用した原発巣解析を、12 症例を対象に実施した。現在 21 症例の蓄積が完了し、血漿も順次収集している。30 症例を目標に集積する。症例集積後、次世代シーケンサー解析で明らかとなった遺伝子変異パターンから、ctDNA の標的遺伝子を決定する。収集している血漿成分を用いて ddPCR で解析、また術前治療前後の MRI のリスク因子を評価し、その後の予後との関連性を評価することによって、適正な患者個別的リスク層別化、治療個別化につなげる。

12 症例の原発巣の次世代シーケンサーの解析が完了し、APC、TP53 などの癌抑制遺伝子、KRAS, NRAS, PIK3CA などの癌遺伝子の他、BRCA1、BRCA2、FBXW7、POLD1、POLE などの遺伝子にも変異が検出された。今後は原発巣の遺伝子変異の結果を元に ddPCR でフォローする対象変異を同定する。MRI の所見に関して、18 例解析時点で EMVI 陽性率は 14/18=78%であった。

## 4.考察

現在の ctDNA 評価に関して、各研究が採用する方法は異なっており、陽性／陰性は絶対的評価ではない。本研究で対象とするような治癒切除を目的とする対象においては、手術後の微小遺残癌細胞を検出することの有用性が現在明らかとなっており、感度が高い評価方法を採用することが重要である。さらに検査コストも考慮した場合には、ddPCR で血中の

ctDNA を検出することが妥当であると考えられる。ddPCR で ctDNA をフォローするうえで、原発巣の遺伝子変異を網羅的に検出し、ddPCR でフォローする対象遺伝子変異を決定する過程が必要である。本研究で採用した ctDNA の評価方法・時期は、前治療の重要性が高い進行直腸癌に対する集学的治療の意義を評価するうえで妥当であると考えており、将来の解析で、本研究のアウトカムである無病生存率との関連性を検証する。

MRI に関しては、本邦では日常臨床で撮像することは一般化しておらず、撮像プロトコールに関しても多様であると考えられる。本研究における MRI 撮像に関しては、スライス厚、ピクセルサイズなどを高精度な条件に設定しており、欧米と同様の画像が入手できている。さらに 3D MRI も活用することで、病変の連続性を検証することが可能であると考えている。実際に本研究における EMVI 陽性率は、これまでの研究よりも高値であり、従来よりも細部の所見を検出できる可能性がある。

## 5.結語

本研究では、今後 ctDNA および MRI 所見と無病生存率との関連性を検証し、進行直腸癌リスクの層別化を可能とするための方法を探索する。高リスク症例に対して、total neoadjuvant therapy など治療強度の高い集学的治療を投与する、低リスク症例に対しては手術単独の治療を実施し過剰治療を回避する、などの治療へとつなげることで、進行直腸癌治療成績の向上、医療資源の適正利用に資する結果を報告したい。

## 6.文献

- 1) Yoo RN, Kim HJ. Ann Gastroenterol Surg. 2019 Apr 29;3(4):356-367.
- 2) Reinert T, Henriksen TV, Christensen E, Sharma S, Salari R, Sethi H, et al. JAMA Oncol. 2019 Aug 1;5(8):1124-1131.
- 3) Hamabe A, Ishii M, Onodera K, Okita K, Nishidate T, Okuya K, et al. Surg Today. 2021. Online ahead of print.
- 4) Battersby NJ, How P, Moran B, Stelzner S, West NP, Branagan G, et al. Ann Surg. 2016 Apr;263(4):751-60.

## 7.成果発表

未