

末梢血循環腫瘍 DNA を用いた膵癌微小転移診断法の開発

札幌医科大学 消化器・総合、乳腺・内分泌外科学講座

村上 武志

1. 諸言

膵癌は5年生存率が8%と非常に予後不良な疾患のひとつであり、治療成績向上のために、切除可能性分類に基づいた集学的治療が推奨されている。一方で、画像上は切除可能 (R)・切除可能境界 (BR) 膵癌の診断であったとしても、開腹時に画像診断では捉えることのできない肝転移、腹膜播種、傍大動脈リンパ節転移などの遠隔転移が明らかとなり、非切除となる症例が30%存在する。質の高い集学的治療のためには、このような放射線診断陰性の遠隔転移を高精度に診断することが必要となる。

担癌患者の血中には腫瘍細胞から放出される末梢血循環腫瘍 DNA (ctDNA) が存在し、digital-PCR や次世代シーケンサーを用いることで微量な ctDNA を高感度に測定することが可能となった。膵癌では、術前あるいは術後の ctDNA^{KRAS} 陽性が有意な再発リスク因子であること¹⁾や ctDNA^{KRAS} が放射線診断陰性の遠隔転移症例で転移陰性例に比べ高頻度に検出されること²⁾が報告された。ctDNA で検出される変異は多岐にわたるが、ctDNA^{KRAS} 以外の変異の意義は十分に解明されていない。

本研究は既存の画像評価や腫瘍マーカー加えて、ctDNA が放射線診断陰性の遠隔転移の検出に寄与するかを明らかにすることを目的とした。

2. 方法

2.1 放射線診断陰性遠隔転移リスク因子の後方視的解析

2008年から2020年に当科で切除を企図した R・BR 膵癌症例を後ろ向きに集積し、放射線診断陰性の遠隔転移のリスク因子を解析した。

2.2 R・BR 膵癌の ctDNA 解析

R・BR 膵癌と診断された症例を対象に術前血液を前向きに集積し ctDNA を解析し、切除例では原発巣のゲノム変異を解析した。

・ゲノム解析：採取した血漿サンプルを用い Oncomine Pan-Cancer panel による ctDNA の解析を行った。切除症例では、Ampliseq Comprehensive cancer panel を用いて切除検体の原

発腫瘍のゲノム変異を解析した。

3.結果

3.1 放射線診断陰性遠隔転移のリスク因子

289 例の R・BR 膵癌を後ろ向きに集積した。対象症例中 50 例 (17.3%) に放射線診断陰性の遠隔転移が手術時に判明した。臨床因子による多変量解析の結果、術前 CA19-9 値 (CA19-9 ≥ 84.7 U/mL)、診断時腫瘍径 (≥ 23 mm) が放射線診断陰性遠隔転移のリスク因子であることを明らかにした (表 1)。

表 1 放射線診断陰性遠隔転移のリスク因子

		単変量解析			多変量解析		
		OR	95%CI	P 値	OR	95%CI	P 値
年齢	≥ 70 歳	0.85	0.46-1.57	0.61			
性別	男性	0.89	0.48-1.63	0.70			
腫瘍位置	体尾部	1.72	0.83-3.53	0.14			
腫瘍径	≥ 23 mm	2.39	1.28-4.47	0.01	2.23	1.18-4.20	0.013
切除可能性 分類	BR	1.28	0.65-2.50	0.47			
術前 CA19-9	≥ 87.4 U/mL	2.14	1.16-3.98	0.02	1.97	1.05-3.69	0.034
術前治療	あり	1.20	0.64-2.28	0.56			

3.2 原発巣のゲノム変異解析・ctDNA 解析

これまでに 56 症例の R・BR 膵癌を前向きに集積し、手術を行った。56 症例中 16 例 (28.6%) で手術時に遠隔転移が明らかとなった。遠隔転移は、肝転移 4 例、腹膜播種 6 例、傍大動脈リンパ節転移が 6 例であった。16 例中 11 例 (68.8%) が、放射線診断陰性遠隔転移のリスク因子 (術前 CA19-9 ≥ 87.4 U/mL、診断時腫瘍径 ≥ 23 mm) を有していた。一方で、転移のなかった 40 例中、リスク因子を有していた症例は 14 例 (35%) であった。

これまでに、切除症例 43 例中 30 例の原発腫瘍のゲノム変異を解析した。原発巣のゲノム変異は 209 遺伝子の変異が検出された。最多は KRAS 変異で 24 例、次いで TP53 変異が 17 例で検出された。術前 ctDNA は 56 例中 42 例で解析した。ctDNA は、解析した 42 例中 19 例 (45.2%) で陽性であり、最多は KRAS 変異で 9 例、次いで TP53 変異が 8 例で検出された。

新規症例の検体採取を継続中で、原発巣の変異解析、ctDNA の解析を順次行っている。本年中の症例集積の継続を予定しており、症例集積後に既存の画像評価 (腫瘍径)、腫瘍マ

ーカー (CA19-9) に加え、ctDNA が放射線診断陰性の遠隔転移の診断に寄与するかを評価する予定である。

4.考察

R・BR 膵癌に対する術前治療の意義が明らかとなりつつあり³⁾、術前治療は標準的なアプローチとなった。一方で、手術時に放射線診断陰性の遠隔転移が存在する症例では、術前化学療法は病期の過小診断により治療強度の低い不適切な化学療法となる。術前治療・手術対象の適正化のためには、正確な病期診断がこれまで以上に重要となる。

膵癌の放射線診断陰性の遠隔転移に関する既報⁴⁾では、術前 CA19-9 がリスク因子であるという報告があり、自験例の検討でも同様であった。しかし、CA19-9 は 10%程度存在するルイス式血液型抗原陰性症例では、CA19-9 が産生されず偽陰性になることが知られている。そのため、腫瘍径や ctDNA を加えて複数の因子を解析することで、さらなる正確な遠隔転移診断が可能となることが期待される。

5.結語

本研究は、本年中の症例集積を予定している。今後 ctDNA および自験例の後方視的検討から明らかにした遠隔転移のリスク因子の関連性を検証し、膵癌術前 ctDNA が遠隔転移診断に有用な因子となるかを明らかにする。ctDNA により遠隔転移の存在やリスクを層別化することで、集学的治療の個別化が可能となり、膵癌治療成績の向上へとつながる結果を報告したいと考えている。

6.文献

- 1) Groot VP, Mosier S, Javed AA, Teinor JA, Gemenetzi G, Ding D et al. Circulating Tumor DNA as a Clinical Test in Resected Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res.* 2019;25(16):4973-4984.
- 2) Hata T, Mizuma M, Iseki M, Takadate T, Ishida M, Nakagawa K et al. Circulating tumor DNA as a predictive marker for occult metastases in pancreatic cancer patients with radiographically non-metastatic disease. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2021;28(8):648-658.
- 3) Unno M, Motoi F, Matsuyama Y, Satoi S, Matsumoto I, Aosasa S et al. Randomized phase II/III trial of neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine and S-1 versus upfront surgery for resectable pancreatic cancer (Prep-02/JSAP-05). *J Clin Oncol.* 2019;37(Suppl 4):abstr189.
- 4) Oba A, Inoue Y, Ono Y, Irie S, Sato T, Mise Y et al. Radiologically occult metastatic pancreatic cancer: how can we avoid unbeneficial resection? *Langenbecks Arch Surg.* 2020;405(1):35-41.

7.成果発表

なし