

論文内容の要旨

Early dynamics of circulating tumor DNA predict chemotherapy responses for patients with esophageal cancer

(血中循環腫瘍由来 DNA の早期変動による食道癌化学療法患者の効果予測)

(藤澤良介, 岩谷岳, 遠藤史隆, 井戸川雅史, 佐々木教之, 開勇人, 丹下正一郎, 平野朋美, 小泉優香, 阿部正和, 八重樫瑞典, 秋山有史, 増田万里, 佐々木章, 高橋史朗, 佐々木泰史, 時野隆至, 西塚哲) (Carcinogenesis 42 巻, 10 号, 令和 3 年 9 月掲載)

I. 研究目的

進行食道癌治療では全身化学療法が重要な役割を果たしている。治療効果の評価は CT 画像により行われるが、非腫瘍性反応性病変の鑑別が困難なことや病変による効果の違いにより総合判定が難しく、数サイクル施行後に治療効果が明らかになる症例も多い。通常、画像上増悪が認められるまで同じレジメンが継続されるが、多くの症例で効果のない治療を継続している可能性が考えられる。化学療法効果を早期に正確に診断することは、不要な有害事象を減らし、早期の次治療移行を可能にするものと思われる。

近年、血中循環腫瘍由来 DNA (circulating tumor DNA: ctDNA) は、多くの癌で血液検体による癌診断や微量癌の検出による早期再発発見、予後予測などでその有用性が示唆されている。われわれは先行研究で、digital PCR (dPCR) を用いた ctDNA モニタリングにより食道癌患者の臨床経過における早期再発発見、正確な治療効果判定、無再発の確認、が可能であることを示した。本研究では dPCR による ctDNA 解析を用いて、初回化学療法 1 サイクル前後の ctDNA の早期変化がその後の化学療法効果を予測可能か検討した。

II. 研究対象ならび方法

本体研究の「食道扁平上皮癌患者における circulating tumor DNA を用いた腫瘍量モニタリング」試験に登録された 64 症例のうち、初回治療として化学療法を受けた 47 例を抽出し、化学療法 1 サイクル後の血液検体のない 5 例を除外し、42 例が本研究に登録された。化学療法中の CT 上の総腫瘍体積の変動を各評価ポイントで楕円体近似により計測した。31 遺伝子を標的とした遺伝子パネルを用いて原発巣腫瘍組織の遺伝子変異解析を行った。検出された腫瘍特異的変異のうち各症例 1~3 個の変異を用いて治療経過中の ctDNA モニタリングを行った。

化学療法終了時すなわち次治療移行前の CT 検査で、総腫瘍体積が治療開始前の 50% 未満に縮小した場合を「total Objective Response (OR) 陽性」、50% 以上の場合を「total OR 陰性」と治療効果を定義した。初回サイクル前後の ctDNA の変異アリル頻度 (Variant allele frequency: VAF) の変化割合 (post-/pre-ctDNA)、総腫瘍体積の変化割合 (post-/pre-volume)、および腫瘍マーカーの変化割合 (post-/pre-SCC, CEA, CYFR) による治療効果の予測能を受信者操作特性曲線解析により比較した。

III. 研究結果

42例43原発腫瘍で計96変異が検出された。70変異(症例当たり1-3個)を選択しdPCR probe作成し, 2例は原発巣DNAで動作確認できず解析対象から除外した。治療前血漿のdPCR解析では95%の症例(38/40)でctDNA陽性であり, 進行した病期ほど高いVAFを示した($P = 0.002$; Jonckheere-Terpstra検定)。

post-/pre-volumeおよびpost-/pre-ctDNAのtotal OR予測に対する曲線下面積(AUC)はそれぞれ0.85 [95% confidence interval (CI), 0.64-1.00] および0.88 (95% CI, 0.55-0.98)であった。post/pre-ctDNAのカットオフ値は0.13で, 感度は0.78, 特異度は0.93であった。post-/pre-Tumor Marker (SCC, CEA, CYFRA)のAUCはそれぞれ0.72, 0.57, 0.64であり, post-/pre-ctDNAによる予測能よりも低かった。ctDNA検査は血液検体で既存の腫瘍マーカーより高く, 総腫瘍体積測定と同等の正確性で治療効果予測が可能であることが示唆された。

1サイクル後にCT上十分な縮小体積減少が得られた症例(post-/pre-volume < 50%: $n = 18$)では, 13例がpost-/pre-ctDNA低値(<0.13, cutoff)を示し, そのうち92.3% (12/13)はtotal OR陽性であった。一方, post-/pre-volume $\geq 50\%$ の症例($n = 20$)のうち, post-/pre-ctDNA低値($n = 5$)は全例total OR陽性であり, post-/pre-ctDNA高値($n = 15$)は優位にtotal OR陰性症例が多かった($P < 0.001$; Fisher's exact test)。またtotal OR陰性症例($n = 13$)全例がpost-/pre-ctDNA高値(≥ 0.13 , cutoff)であった。total OR予測に関するpost-/pre-ctDNAのAUCはpost-/pre-volumeのAUCよりも高かった[0.85 (95% CI, 0.64-1.00) vs 0.76 (95% CI, 0.55-0.98)]。1サイクル後に画像上変化の乏しい症例でctDNAによる効果予測が特に有効であることが示唆された。

post-/pre-ctDNA低値群($n = 18$)では, 高値群($n = 20$)よりも化学療法の奏功期間が有意に長く(71.7 ± 48.0 days vs 29.8 ± 45.4 days; $P = 0.001$; Mann-Whitney U test)。生存期間が長かった(hazard ratio, 0.40; 95% CI, 0.17-0.93; $P = 0.031$; log-rank test)。

IV. 結 語

食道癌症例における化学療法の初回サイクル前後の早期ctDNA変化はその後の化学療法効果を正確に予測可能であり, 特に初回サイクル後に画像上腫瘍体積変化の少ない症例で有効であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 新田 浩幸 (外科学講座)

副査 教授 志賀 清人 (頭頸部外科学科)

副査 教授 小原 航 (泌尿器科学講座)

食道癌化学療法の治療効果判定は CT 検査により行われているが、治療開始初期には変化が少なく数サイクル後に効果が明らかになる症例も多いため、治療開始初期の正確な効果判定が難しい。本論文は、がん患者における血中に遊離した腫瘍細胞由来 DNA (circulating tumor DNA: ctDNA) に着目し、食道癌化学療法の 1 サイクル前後の ctDNA 変化から治療効果予測が可能かを検証したものである。食道扁平上皮癌に対して初回治療として化学療法を施行した 42 例を対象として次世代シーケンサーで原発巣の変異解析を行い、検出された症例特異的な変異に対して dPCR の primer/probe を合成し ctDNA モニタリングを行った。また、CT 画像から総腫瘍体積を概算し、ROC 曲線解析を用いた各パラメータの治療効果に対する予測能力の検証および ctDNA の変動割合による予後解析も行った。これらの検証結果により、化学療法 1 サイクル前後の ctDNA 変化によるその後の治療効果判定は CT 評価や従来の腫瘍マーカー (SCC, CEA, CYFRA) の変化よりも優れており、高度な ctDNA 減少例では化学療法の継続により良好な治療効果が期待された。また、早期 ctDNA 変動は治療効果が SD である症例においても高い治療効果予測能を有しており、不応例による早期治療変更を可能にすることを示した。

本論文は、食道扁平上皮癌の化学療法施行患者に対して新たな治療戦略を示した研究であり、学位に値する。

試験・試問の結果の要旨

研究方法、研究内容、本研究結果を踏まえた今後の研究の方向性および臨床への応用などについて試問を行い適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考文献

- 1) Giant gastrointestinal stromal tumor of the mediastinum associated with an esophageal hiatal hernia and chest discomfort: a case report (食道裂孔ヘルニアに合併し胸部不快感を有した縦隔内の巨大消化管間質性腫瘍の 1 例: 症例報告) (藤澤良介, 他 13 名と共著)
Surgical Case Reports, 4 巻, 144 号(2018) : p1-7.
- 2) Efficacy of enhanced prehabilitation for patients with esophageal cancer undergoing esophagectomy (食道癌患者に対する食道切除術における強化術前リハビリテーションの有用性) (秋山有史, 他 15 名と共著)
Esophagus, 18 巻, 1 号(2020) : p56-64.