

授与番号	甲第 1904 号
------	-----------

## 論文内容の要旨

The clinical validity of digital PCR based circulating tumor DNA monitoring in patients with colorectal cancer who received adjuvant chemotherapy  
(術後化学療法を受けた大腸癌患者におけるデジタルPCR法を用いたctDNAモニタリングの臨床的妥当性)

(佐々木智子, 八重樫瑞典, 佐々木章, 岩谷岳)

(Journal of Iwate Medical Association 75 巻, 3 号 令和 5 年 8 月掲載)

### I. 研究目的

腫瘍細胞由来血中遊離 DNA である circulating tumor DNA (ctDNA) は原発巣と同じ変異を有しており, 患者特異的な血液バイオマーカーとして期待されている. 我々は大腸癌を含む消化器癌で digital PCR (dPCR) による ctDNA 検査が早期再発発見, 治療効果判定, 無再発確証に臨床的妥当性を有することを示した. 現在, 大腸癌患者に対しては生存率向上のため術後補助化学療法 (ACT) とサーベイランスが行われている. ACT の有用性は Stage III では明確に証明されているが, Stage II ではまだ議論の余地がある. 最近の研究では, Stage II 大腸癌の治療において, 循環腫瘍 DNA (ctDNA) を基準としたアプローチが無再発生存率を低下させることなく ACT の使用量を減少させることが示された. 我々は, dPCR による経時的 ctDNA 解析により, ACT を受けた大腸癌患者において早期再発予測が可能かどうかを検討した. 本研究では, 補助療法を受けた大腸癌 52 症例における digital PCR による ctDNA の長期 monitoring と再発の有無について評価した.

### II. 研究対象ならび方法

当科で進行中の大腸癌 ctDNA モニタリング研究 (MH2021-073) に登録された大腸癌症例のうち, 治癒切除が施行され, 登録後 3 年以上経過した 52 名を対象とした (2016 年 3 月 ~ 2018 年 6 月登録例). 原発巣組織を Next Generation Sequence (NGS) を用いてパネルシーケンスを行い, 検出された個々の腫瘍特異的変異を標的とした dPCR による ctDNA モニタリングを行った. ctDNA および CEA 検査による「臨床的再発」(画像診断による確定診断) の診断予測性能を比較した. また, 術後補助化学療法を受けた患者において, 術前, 術後における ctDNA 検出の有無による再発リスクを評価した.

### III. 研究結果

全 52 症例のサーベイランス期間において 87 変異 (症例あたり 1-5 変異) を用いて dPCR による ctDNA レベルの評価が可能であった. 高頻度に変異が検出された遺伝子は TP53 (37/52, 71.2%), APC (28/52, 53.8%), KRAS (24/52, 46.2%), PIK3CA (13/52, 25.0%), BRAF (8/52, 15.4%) であった. 867 採血ポイントの計 1526 血漿サンプルで ctDNA 解析を行った.

症例あたりの ctDNA 検査頻度は 16.4 回で、観察期間中央値は 1503.3 (322-1951) 日であった。術後サーベイランス期間の経時的 ctDNA 検査が臨床的再発に対する診断性能は、感度 85.7%、特異度 97.6%、陽性反応的中率 92.3%、陰性反応的中率 95.4%であった。一方、CEA 検査の再発診断性能は、感度 64.3%、特異度 61.9%、陽性反応的中率 36.0%、陰性反応的中率 83.9%であった。初回手術で治癒を目指した切除を受けた 51 名のうち、術前の ctDNA 量には再発を認めた患者 (n=9) と認めなかった患者 (n=42、P = 0.05) の間に有意差は認められなかった。しかし、再発した患者 (n=9) は術後において再発のない患者 (n=42) に比べて有意に高い ctDNA VAF を示した (P < 0.0001)。CEA については、再発患者と非再発患者の間に有意差は認められなかった。補助療法施行 14 例のうち、再発例 6 例中 4 例 (66.7%) は術直後 ctDNA 陰性であったが、6 例全例で経過中の CT での再発確認前に ctDNA の上昇が見られた。術後経過中の ctDNA 陽性症例は陰性維持例に比し有意に再発リスクが高かった (ハザード比 39.6, 95%信頼区間 6.4-243.9, P < 0.0001)。

#### IV. 結 語

経時的な ctDNA 解析は補助療法施行の判断と早期再発発見の両方に妥当性を有することを示した。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 前沢 千早 (医歯薬総合研究所：腫瘍生物学研究部門)  
副査 教授 下沖 収 (救急・災害・総合医学講座：総合診療医学分野)  
副査 教授 小原 航 (泌尿器科学講座)

大腸癌患者の多面的な術後再発追跡調査は、再発の早期発見と早期治療の開始につながり、生存率の改善をもたらす事が期待されている。本論文では、腫瘍組織の網羅的遺伝子解析によって特定された腫瘍特異的な変異を指標に、高感度/高精度な digital PCR (polymerase chain reaction) (dPCR) 法を用いて、大腸癌患者の血中 circulating tumor DNA (ctDNA) 定量によるモニタリングを行った。ctDNA 検査の再発に対する診断性能は、感度 85.7%、特異度 97.6%、陽性反応的中率 92.3%、陰性反応的中率 95.4%であった。この診断精度は、同じ血液サンプルで実施される腫瘍マーカー定量 (CEA) を遙かに凌駕するものであった。加えて、画像診断で最も信頼度の高い CT 検査よりも早期に検出可能であり、ctDNA 検出先行期間は平均 197.1 (0-376) 日であった。

腫瘍特異的遺伝子変異を指標とした ctDNA の dPCR 解析法は、高感度に腫瘍再発の検出が可能であり、その陰性反応的中率の高さは従来の大腸癌術後サーベイランス・スケジュールを根本的に変える可能性を示唆している。高価で侵襲的な CT や腫瘍マーカーの検索が不要になり、安価な遺伝子検査法によるモニタリング法が確立されれば、国民医療費や患者の負担軽減の面からも直接的に社会に貢献できる優れた研究である。学位に値する論文である。

## 試験・試問の結果の要旨

大腸癌の再発治療、遺伝子解析法などの事項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。

## 参考論文

- 1) Early dynamics of circulating tumor DNA predict chemotherapy responses for patients with esophageal cancer  
(circulating tumor DNA の初期変動を用いた食道化学療法効果予測に関する検討) (藤澤良介, 他 18 名と共著  
Carcinogenesis, 42 巻, 10 号 (2021): p1239-1249.
- 2) S 状結腸下行結腸接合部 (SDJ) 近傍の S 状結腸癌に対する手術手技  
(大塚幸喜, 他 11 名と共著)  
外科, 83 巻, 10 号 (2021): p1101-1106.