



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膵臓癌のリキッドバイオプシーによる循環腫瘍DNAの臨床的有用性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	渡邊, 一永
Description	配架番号 : 2929
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16437号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95573
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	WATANABE_Kazunori_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 渡邊 一永

学 位 論 文 題 名

膵臓癌のリキッドバイオプシーによる循環腫瘍 DNA の臨床的有用性に関する研究
(A study on the clinical utilities of liquid biopsy circulating tumor DNA in pancreatic cancer)

【背景と目的】

膵臓癌は非常に予後不良な癌の 1 つであり、診断時に 8 割の症例が手術不能である。手術が唯一の根治的治療であるが、化学療法や放射線療法の奏効率が低く術後に有効な治療法が少なく、根治切除症例でも 2 年以内に 8 割が再発するため早期診断・再発の検出方法の探索、新規治療法の開発が急務である。

現在、膵臓癌におけるモニタリングは CA19-9、画像検査で行われるが、CA19-9 が上昇しない症例（Lewis 抗原陰性）があり、また画像検査はある程度の増大を認めて初めて検出が可能となる。

近年、次世代シーケンサー（next generation sequencing : NGS）によるリキッドバイオプシー解析が進められているが、膵臓癌においては *KRAS* 変異を対象とした ddPCR（droplet digital polymerase chain reaction）による評価が多く、NGS によるリキッドバイオプシーの有用性を評価した報告は少ない。

本研究は根治切除を施行した膵臓癌を対象とし、リキッドバイオプシーの臨床的有用性を NGS で評価することを目的とした。ctDNA（circulating tumor DNA）の検出率を明らかにすると共に、検出率を向上させる方策として、腫瘍のゲノムプロファイリングに基づいたアプローチ（Tumor informed approach : TIA）の有用性に関する検討も行った。

【材料と方法】

2019 年 6 月から 2020 年 12 月に北海道大学病院、札幌医科大学附属病院で手術を受けた膵臓癌患者 152 症例の内、基準を満たさなかった 7 症例を除いた 145 症例を対象とした。原発巣検体と術前に採取した血漿から gDNA（genome DNA）、cfTNA（cell free total nucleic acid）を抽出し、遺伝子パネルを用いたターゲットシーケンスを施行し、血漿サンプルを用いたリキッドバイオプシーのみでの評価と TIA を基にした評価を行った。評価した ctDNA 結果、腫瘍のゲノムプロファイリング、CA19-9 を用いて術後再発との関連についても検討した。腫瘍中の *KRAS* については ddPCR でも評価した。

【結果】

リキッドバイオプシーのみの評価では、145 症例中 51 症例（35.2%）に変異が検出された。TIA を用いることで 145 症例中 69 症例（47.6%）に検出率が上昇した（ $p=0.0425$ ）。特にサンプル採取が治療介入前の 71 症例では、TIA によって有意に変異検出率が向上したが（ $p=0.0435$ ）、治療介入後の 74 症例では有意な変異検出率の向上を認めなかった（ $p=0.4892$ ）。また、*KRAS* ctDNA 検出率は治療介入前の症例と比較し、治療介入後の症例の方が有意に検出率が低かった（ $p=0.0038$ ）。病理学的因子のうち T、N 因子は ctDNA の検出と関連を認めず、M 因子のみが ctDNA の検出と有意な関連を認めた（ $p=0.0476$ ）。NGS では腫瘍中から *KRAS* 変異が 112 症例（77.2%）検出され、*TP53*

は 76 症例 (52.4%)、*SMAD4* が 25 症例 (17.2%)、*CDKN2A* が 12 症例 (8.3%) に検出された。*KRAS* ddPCR では 133 症例 (91.7%) で検出され、NGS よりも検出率が高かった。NGS と ddPCR で検出された変異頻度は高い相関を認めた ($R^2=0.82$)。腫瘍組織のゲノムプロファイリングでは *TP53* 変異のみが再発と有意な関連を認めており ($p=0.0245$)、*KRAS* 変異と *CDKN2A* 変異を併せ持つ症例は再発しやすい傾向を認めた ($p=0.0971$)。リキッドバイオプシーにおいて TIA で検出された ctDNA すべてを対象とすると再発との関連を認めなかったが ($p=0.5283$)、TIA で一致した ctDNA のみを対象とした場合、ctDNA が検出された症例は、検出されなかった症例と比較して有意に再発が見られ ($p=0.0094$)、その中でも *KRAS* ctDNA が最も関連があることが示された ($p=0.0082$)。*KRAS* 以外の ctDNA は予後と関連を認めなかった ($p=0.4746$)。また *KRAS* ctDNA と *TP53* ctDNA を併せ持つ症例はさらに予後不良であった ($p<0.0001$)。CA19-9 単独では再発しやすい傾向を示すのみであったが ($p=0.0618$)、TIA で一致した ctDNA を有しかつ CA19-9 高値の症例は有意に予後不良であった ($p=0.0213$)。

【考察】

本研究では膵臓癌におけるリキッドバイオプシーの有用性を明らかにすべく、145 の膵臓癌切除症例を対象に、409 のがん関連遺伝子を対象とした遺伝子パネル、52 のがん関連遺伝子を対象とした遺伝子パネルの 2 つを用いたターゲットシーケンス、*KRAS* を対象とした ddPCR を行った。その結果リキッドバイオプシー単独ではなく TIA を用いる方が変異の検出率向上と予後予測に有用であることが示された。特に治療介入前のサンプルで TIA での変異検出率が有意に高くなっており、サンプル採取のタイミングが重要であると考えられた。また *KRAS* ctDNA は、治療介入前の症例と比べ、治療介入後の症例で有意に検出率が低かった。このことから *KRAS* ctDNA が術前治療によって消失しており、ctDNA の評価は術前後の治療効果判定に有効であることが示唆された。またリキッドバイオプシーで検出された ctDNA すべてを対象とした場合、予後と関連を認めなかった。これは検出された変異が、ctDNA だけではなく、血漿中の cfDNA を完全に除外できておらず ctDNA の選択性が低くなったためと考えられる。TIA で一致した ctDNA を対象としても *KRAS* を除いた場合は予後と関連を認めなかった。一方 *KRAS* は単独評価でも予後との関連を認め、さらに *TP53* ctDNA と併せ持つことでより予後予測の精度は向上した。しかし検査の簡便さ、感度、費用対効果を考えた際に NGS による評価ではなく ddPCR による *KRAS* 評価が良い可能性が考えられた。

腫瘍マーカーである CA19-9 が術前に基準値以上であった症例は 86 例 (61.4%) であった。CA19-9 の上昇は再発しやすいを示すにとどまっていた。基準値をカットオフとすると腫瘍自体による上昇だけではなく、胆道狭窄や胆管炎などの非腫瘍原性の CA19-9 による上昇も含まれているためと考えられた。TIA による評価と CA19-9 の測定を組み合わせることで、再発リスクが高い症例を選別することができ、両者を組み合わせて評価するのが有用と考えられた。

【結論】

本研究では切除し得た膵臓癌症例の術前血漿サンプルを NGS 解析し、リキッドバイオプシーの有用性を評価した。TIA を行うことで ctDNA 検出率を向上させることが可能であることが示されたが、検出された ctDNA すべてを対象とした場合、予後との有意な関連を認めず、TIA で一致した ctDNA、特に *KRAS* ctDNA が膵臓癌の予後と関連があることが示された。以上より、リキッドバイオプシーによる、膵臓癌症例の術前予後予測が可能であり、治療戦略決定に有用であることが示唆された。