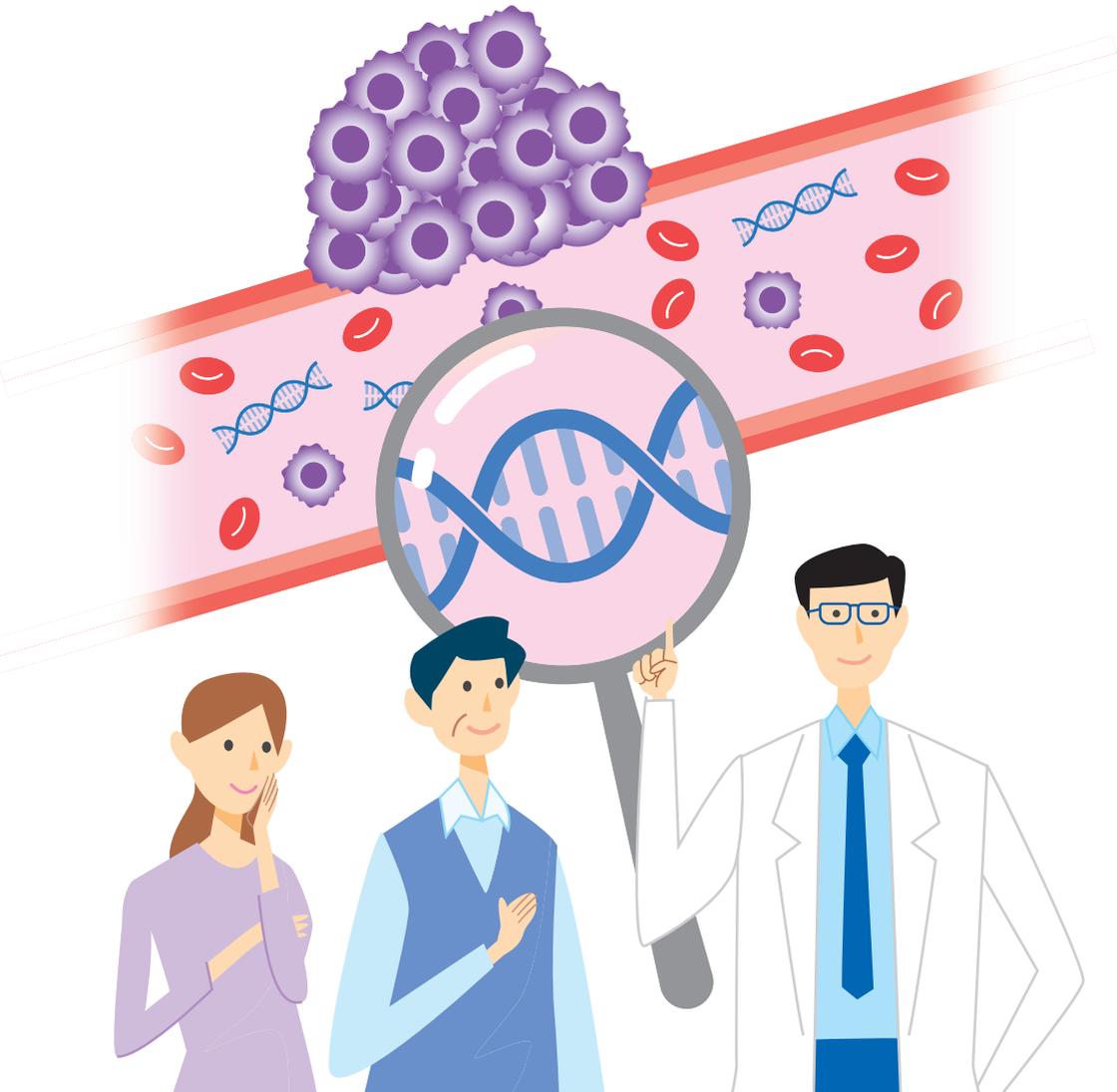


リキッドバイオプシーと 遺伝子検査

～切除不能進行再発大腸がんを例に～



はじめに

過去、がんの治療は肺がん、大腸がん、乳がんなどがんの種類ごとに治療法が選択されていました。しかし、近年の研究や医学の進歩により、同じがんでも患者ごとに特徴が異なること、その要因としてがんの原因となる遺伝子が異なることが分かってきました。加えて、がんの原因となるタンパク質やその設計図となる遺伝子を標的とした分子標的治療薬の登場により患者一人ひとりに合わせた治療が可能となってきました。このように、患者それぞれに応じた適切な治療を行うことを個別化医療と呼び、遺伝子検査などにより有効な治療法や薬剤を選択することが推奨されています。分子標的治療薬を使用するためには、あらかじめ遺伝子検査などで効果があるかどうかを確かめることが必須とされているものもあり、これをコンパニオン診断と言います。

一方で、近年、がんの診断や治療法選択において、がん組織の一部を採取して行う生体検査(生検)や組織検査に代わる新たな手法として、血液などの体液を用いた身体的・精神的負担の少ない「リキッドバイオプシー」による検査が注目されています。

本冊子では、がんの診断や治療法を決定するために必要な遺伝子検査とリキッドバイオプシーの有用性を、切除不能進行再発大腸がんを例に分かりやすく説明していきます。本冊子が、皆様のリキッドバイオプシーについての理解をお手伝いするとともに、一人でも多くの方に最適な医療が届けられることを願っています。

CONTENTS

1. **がん治療の進歩** 1
2. **血液を用いた新たな検査手法「リキッドバイオプシー」** 5
3. **切除不能進行再発大腸がんの治療と検査～RAS遺伝子検査～** 8

1

がん治療の進歩

がんの治療は、がんの種類と進行度、年齢や性別、社会環境や患者ご本人の希望などから総合的に判断して決定されます。

がんの主な治療法として、手術治療、薬物療法、放射線療法があります。がん細胞を物理的に取り除く手術治療や、放射線を当ててがん細胞を壊したり、症状を和らげたりする放射線療法は、がんのある場所に対して局所的に行われます。また、治療薬の投与によりがん細胞の増殖を抑えたり、症状を和らげたりする薬物療法は、がん細胞や全身に対して作用します。どれかひとつだけを行う場合もあれば、2つ以上の治療法を組み合わせることもあります。加えて、がんの種類や進行度、初めての治療か2回目以降の治療かによっても、選択肢が変わってきます。

薬物療法で使用される薬の種類には、抗がん剤(化学療法)、分子標的治療薬、免疫チェックポイント阻害薬などがあり、それぞれがん細胞への攻撃方法が異なります。これまでがんの治療に広く使われてきた抗がん剤は、細胞が分裂する過程に作用し、がん細胞が増殖できないようにするものです。しかし、細胞分裂が活発な正常細胞にも同じように作用してしまう



1. がん治療の進歩

ため、副作用が起こる可能性があります。例えば、胃腸や皮膚、血液をつくる骨髄の細胞は細胞分裂が活発なため、抗がん剤が作用してしまい、吐き気、食欲低下、四肢のしびれ、白血球の減少などの症状が出やすくなります。これに対して、1990年代後半からがん治療に導入されたのが「分子標的治療薬」です。がん細胞は、異常な遺伝子をもとに作られたタンパク質が異常な信号を送ったり、細胞増殖に関与するタンパク質が通常よりも多く作られたりすることで無尽蔵に増殖を続けます。分子標的治療薬はこのタンパク質を標的とし、その働きを妨げ、がん細胞の増殖を抑えます。分子標的治療薬では、正常な細胞を攻撃することが少ないため従来の抗がん剤に比べて副作用が軽減され、患者の負担が減少しました。

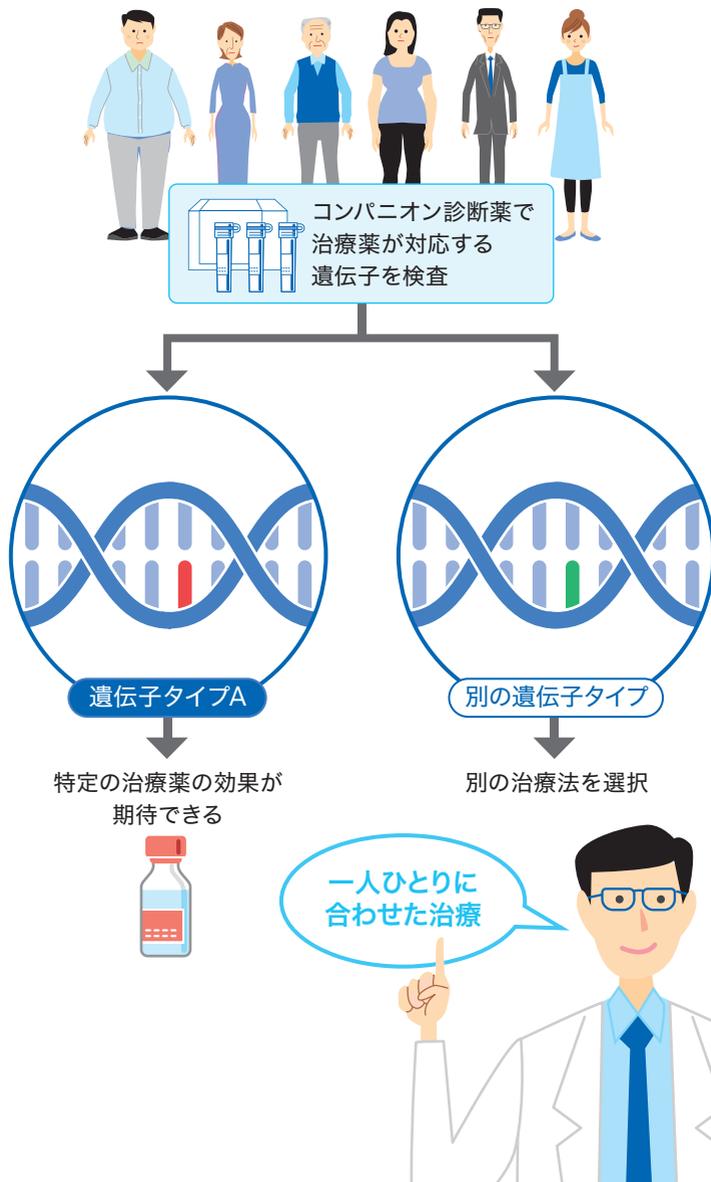
■ コンパニオン診断 (Companion Diagnostics、CDx)

分子標的治療薬を決定するためには、標的となるタンパク質を設計する遺伝子や薬の効果をなくしてしまう遺伝子のがん細胞中にあるかどうかを調べるのが重要です。このように、特定の分子標的治療薬の効果を治療前にあらかじめ検査することをコンパニオン診断 (Companion Diagnostics、CDx) といい、その診断のために使用する検査試薬を「コンパニオン診断薬」と呼びます。コンパニオンとは「ともなう」という意味で、CDxと分子標的治療薬は原則としてセットで対応します。

例えば、ある分子標的治療薬がAという遺伝子 (遺伝子タイプA) を原因とする疾患に有効な場合、AあるいはAに関連する遺伝子を検査します。その結果、治療の効果が期待できる場合にはその分子標的治療薬が選択され、効果が期待できない場合には別の治療法が選択されます (図1)。同じ臓器のがんでも、関連する遺伝子や遺伝子のタイプによって薬の効果が異なるため、患者一人ひとりに合わせた治療の選択が必要です。

図1. コンパニオン診断薬を用いた薬剤決定の流れ

〈例〉遺伝子タイプAの人に有効な治療薬を使う場合



■ 検査に用いられる検体とその課題

適切な治療を行うためには、検査を通してがんの性質を知る必要があります。がんの性質を最も確実に知れる方法はがん組織を直接調べることで、がん組織を顕微鏡で観察する病理検査などが重要な検査として実施されてきました。しかし、切除不能の患者などすべてのケースで組織を採取できるわけではないという課題があります。また、がん細胞がもつ遺伝子異常は治療が進むにつれて変化する可能性があるため、治療薬の効果を経時的に確認することが望ましいとされていますが、組織採取は患者に対し身体的・精神的負担が大きいことから複数回の検査が難しいという課題もあります。



2

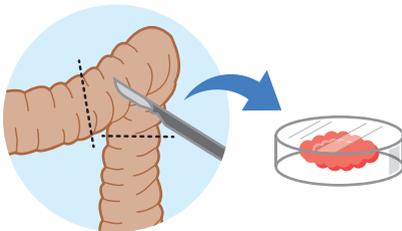
血液を用いた新たな検査手法 「リキッドバイオプシー」

患者への負担を減らし、より適切な治療を行うため、近年新たに、血液を用いてがんの状態を診断する検査手法「リキッドバイオプシー(Liquid Biopsy)」が開発されました。Liquidは液体、Biopsyは生検*1や組織検査を意味します。内視鏡や針を用いて採取したがん組織の生検検体や手術で切除した組織検体(がん組織)に代わり、検体として主に血液を用いるリキッドバイオプシーは、患者への負担が小さく、がん組織を採取できない場合でも実施可能です。また、検体の採取が比較的容易であることから、適切なタイミングで、繰り返し検査できる手法として期待されています(図2)。検体として、血液の他に尿や唾液などの体液検体も用いることがあります。

*1 生検:病変の一部を採取して、顕微鏡で詳しく調べる検査。内視鏡検査等の際に採取したり、超音波(エコー)やX線検査などを行いながら細い針を刺して採取したりすることで、がんの有無や悪性度などを詳しく調べて、病気の診断を行う。

図2. 生検・組織検査とリキッドバイオプシーの違い

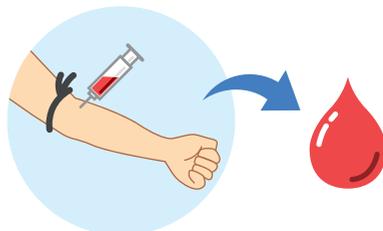
生検・組織検査



手術や内視鏡、針などによって組織の一部を採取し、顕微鏡でがんの病変について調べること

- 患者の負担が大きい
- 病変部位や病状によっては採取が難しい
- 採取した部位の情報しか分からない(がん組織全体を把握できない)

リキッドバイオプシー



血液などの体液を採取し、高感度な手法でがんの病変について調べること

- 患者の負担が小さい
- 病変部位が採取できない場合でも実施できる
- 適切なタイミングで、くり返し検査できる

■ リキッドバイオプシーによるがんの遺伝子検査

ヒトの血液中には、健常な状態でも血球などの血液細胞以外に体内の様々な細胞から漏れ出た一定量の遊離DNA (cell free DNA; cfDNA) が存在しており、がん患者ではその量が増えることが知られています。cfDNAは正常細胞・がん細胞由来を含め、血液中に存在するDNAを指しますが、特に、がん細胞由来のcfDNAはcirculating tumor DNA(ctDNA)と呼びます。がんの遺伝子検査におけるリキッドバイオプシーは、血液検体からcfDNAを回収し、がん細胞由来であるctDNAの遺伝子異常を検出する目的で実施します(図3)。本目的でのリキッドバイオプシーは、デジタルPCR法*2や次世代シーケンサー*3などの高感度な検出法を利用しているため、血液中に含まれる非常に微量なctDNAを検出することが可能になっています。

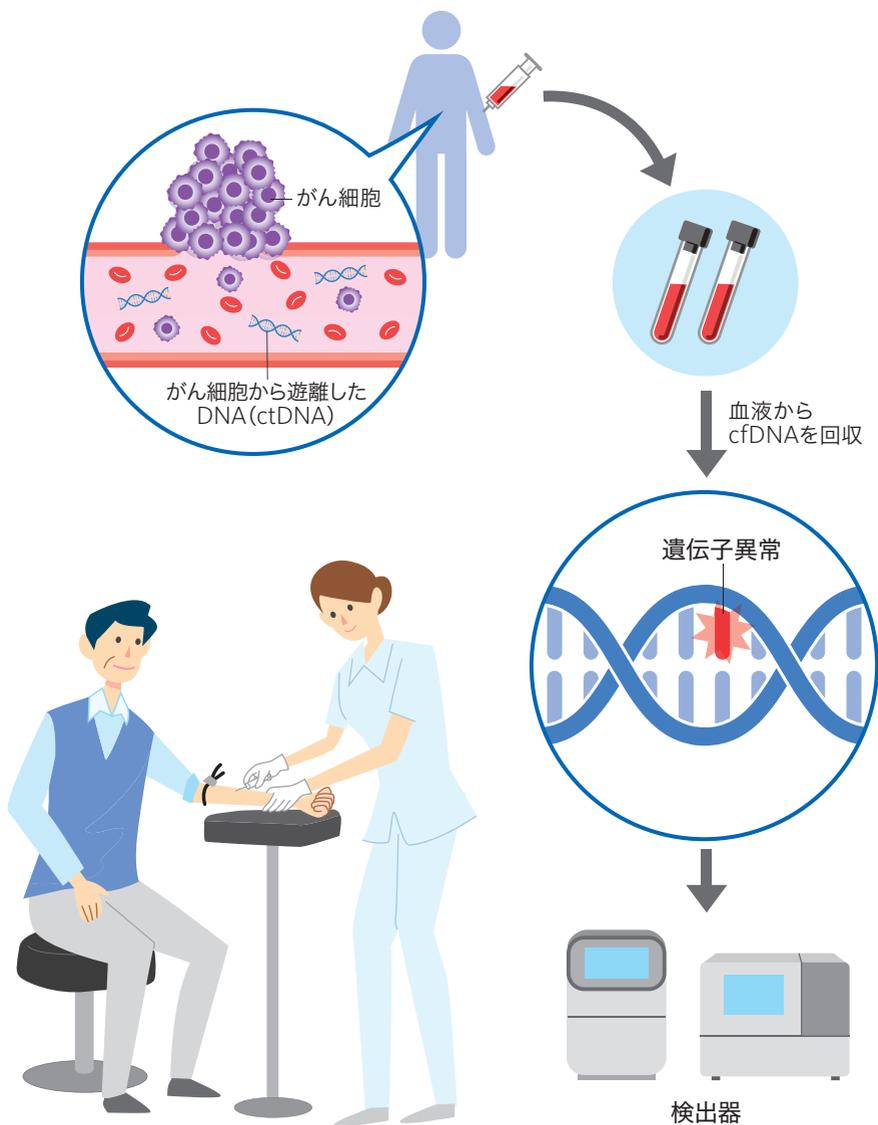
リキッドバイオプシーは、肝臓や肺など体の深部にのみがん組織があり、組織の採取が難しい場合、分子標的治療薬が効かなくなった、あるいは再投与の判断といった治療効果の有無を確認したい場合などに有効です。また、組織検体の処理が不要であるため、結果報告までの時間を短縮することができ、すぐに薬物療法を開始したい場合にも有用性が高いとされています。ただし、ctDNAが血液中にじゅうぶんに漏出していない患者では、がん組織に目的となる遺伝子異常が存在しても、異常なしと判定される可能性があるため注意が必要です。

このような遺伝子検査の一部は保険適用され、対象となる患者に対してCDxとして行われています。

*2 デジタルPCR法: DNA断片を1個ずつ液滴に分配し、各々をPCR(ピーシーアール)法で増やした後、個別に増幅の有無を蛍光シグナル等で確認することで、目的遺伝子を従来よりも高感度に検出できる技術。

*3 次世代シーケンサー: 検体中に含まれる複数の遺伝子情報(塩基配列)を、大量に読み取る解析装置。大量に塩基配列を読むことで、高感度な遺伝子異常の検出が可能となる。

図3. 血液を用いた遺伝子検査の流れ



3

切除不能進行再発大腸がんの治療と検査 ～RAS遺伝子検査～

リキッドバイオプシーの対象となる例として、切除不能進行再発大腸がんの治療と検査の流れについて説明します。

切除不能進行再発大腸がんは、ステージIVあるいは再発により切除不可能と判断されたがんです。大腸がんの病期(＝ステージ)は、がんが大腸の壁に入り込んだ深さ、どのリンパ節までいくつの転移があるか、肝臓や肺など大腸以外の臓器への転移の有無によって決まります。ステージ0が最も進行度が低く、ステージIVが最も進行度が高い状態です。

主な治療には薬物療法や放射線療法があり、延命や症状緩和などを目的とします。

■ 治療法選択のための遺伝子検査

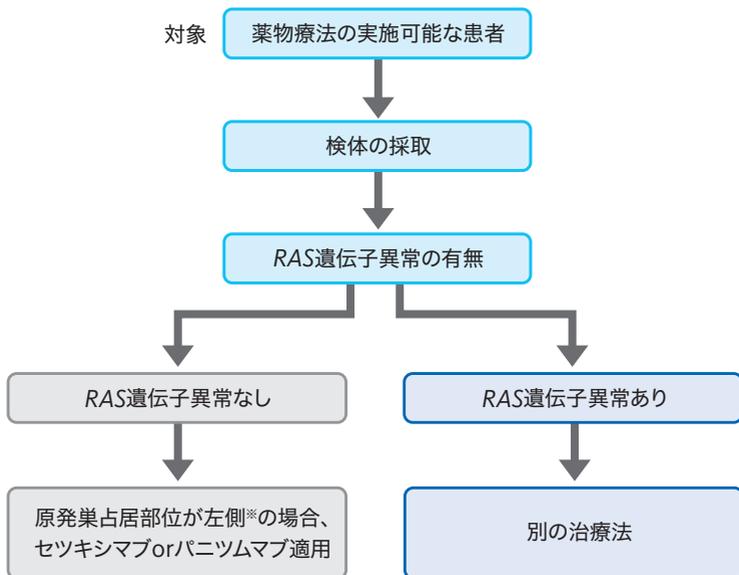
切除不能進行再発大腸がんと診断され薬物療法において認められている治療薬は、抗がん剤、分子標的治療薬、免疫チェックポイント阻害薬があります。以下はそれぞれの治療薬の例です。

- 抗がん剤：オキサリプラチン、イリノテカン、フルオロウラシルなど
- 分子標的治療薬：ベバシズマブ、セツキシマブ、パニツムマブなど
- 免疫チェックポイント阻害薬：ニボルマブ、ペムブロリズマブ

切除不能進行再発大腸がんに対する薬物療法では、それまで主流であった抗がん剤に加え、分子標的治療薬や免疫チェックポイント阻害薬が登場し、治療薬の選択肢が増えました。昨今では、抗EGFR抗体薬などの分子標的治療薬の有用性が示され、一次治療から使用することが強く推奨されています。

抗EGFR抗体薬としてはセツキシマブやパニツムマブが保険適用されて治療に用いることができますが、一方でRAS遺伝子異常を持つ患者には効果が期待できないことが報告されています。そのため、薬物療法が適応可能な患者に対しては、一次治療開始前にCDxとしてRAS遺伝子検査を実施することが「大腸癌治療ガイドライン 医師用2019年版」と、日本臨床腫瘍学会の「大腸がん診療における遺伝子関連検査等のガイダンス 第4版」にて推奨されています(図4)。現在では、リキッドバイオプシーによるRAS遺伝子検査もCDxとして利用できるようになりました。

図4. 治療法選択(抗EGFR抗体薬の適用)のプロセス



※左側：下行結腸、S状結腸、直腸、右側：盲腸、上行結腸、横行結腸を指す。

【参考】抗EGFR抗体薬とRAS遺伝子異常

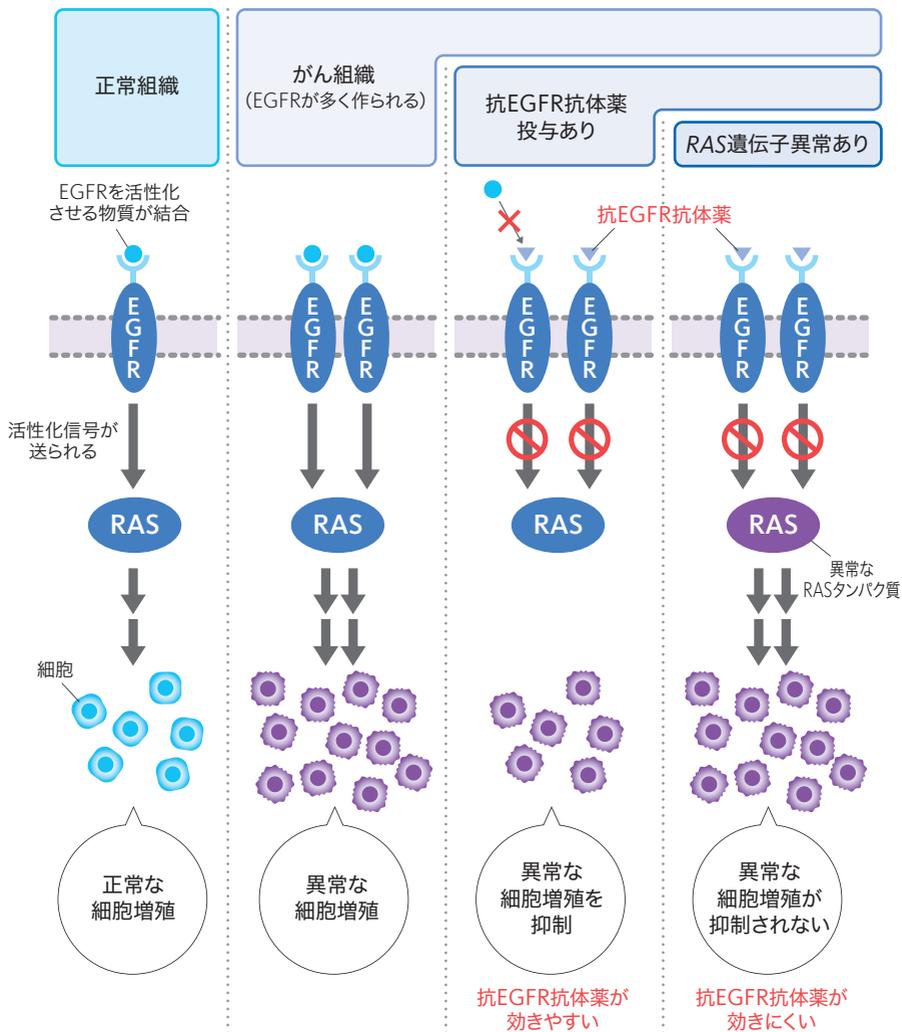
抗体薬は、がん細胞などの細胞表面の目印となる受容体*4などにピンポイントで作用するため、治療効果が高く、副作用が少ないことが期待できます。また、がん組織において過剰に作られるタンパク質を標的として認識するものもあります。

EGFRは上皮成長因子受容体の略で、正常な組織では細胞分化、増殖、維持に関わります。一方で、大腸がんの約80%では遺伝子異常によりEGFRが多く作られることが知られており、これにより大腸がん組織の機能が増大することで、がんの増殖、浸潤、転移、生存、血管新生などに関与していると考えられています。

RASタンパク質は、EGFRなどの刺激により活性化されます。通常は抗EGFR抗体薬によりEGFRの活性が抑制され、EGFRからのRAS活性化信号が抑制されることでRASタンパク質の活性化も抑えられるため、がんの細胞増殖などが抑えられます。しかし、RAS遺伝子に異常が生じ、異常なRASタンパク質により常に活性化された状態になると、EGFRからの信号を抑制しても異常な細胞増殖が抑えられないため、抗EGFR抗体薬の効果は期待できません(図5)。RAS遺伝子にはKRAS、NRAS、HRASの3種類の遺伝子がありますが、大腸がんのRAS遺伝子異常の頻度はKRAS遺伝子が33.0%、NRAS遺伝子が3.7%、HRAS遺伝子が0.6%と報告されています。HRAS遺伝子の異常がまれであることから、RAS遺伝子検査ではKRASとNRAS遺伝子が確認されています。

*4 受容体:細胞表面などに分布し、細胞外からの多様な物質を選択的に受容して、各物質の情報を細胞内やDNAに伝達するタンパク質の総称。

図5. 抗EGFR抗体薬とRAS遺伝子異常の関係



■ RAS遺伝子検査のタイミングと検体

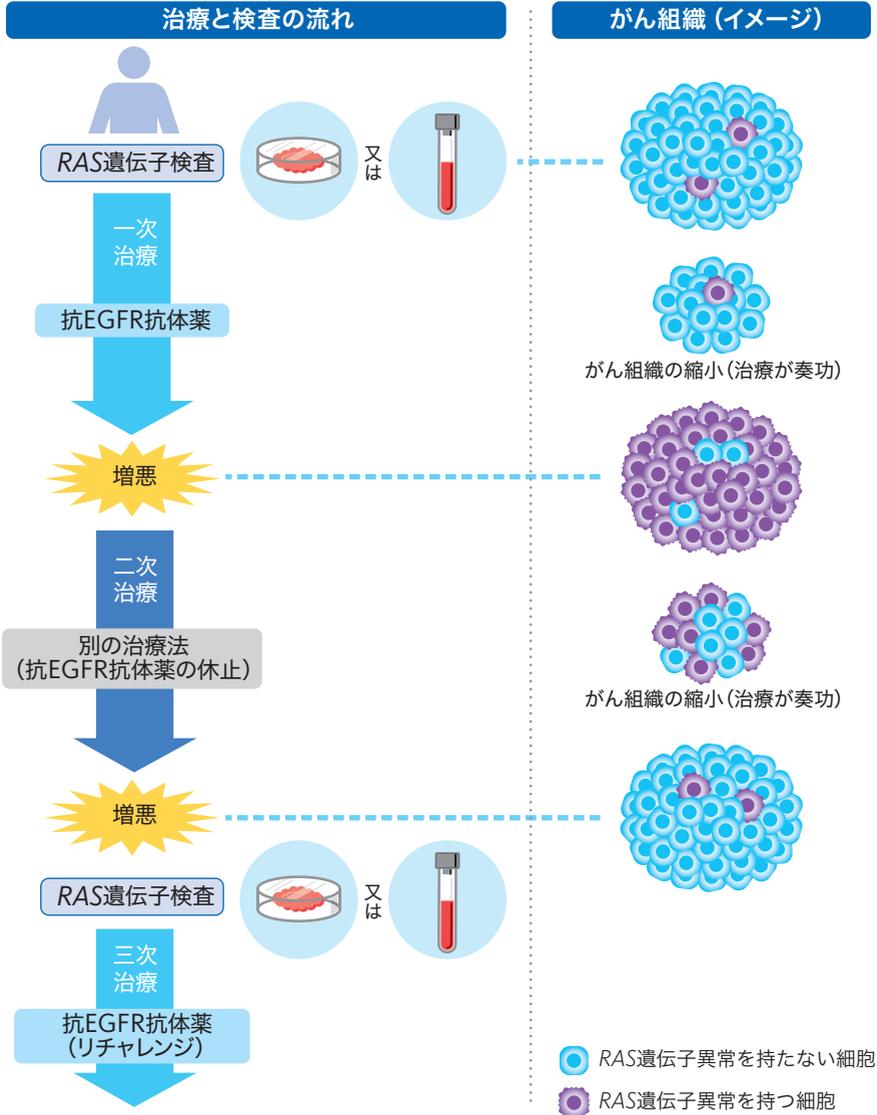
薬物療法の対象となる患者には、抗EGFR抗体薬の適応判定を目的として、一次治療開始前にRAS遺伝子検査を実施することが推奨されています。また、抗EGFR抗体薬による治療中には、治療前に認められなかったRAS遺伝子異常が生じることがあり、抗EGFR抗体薬の薬剤耐性の要因の一つと考えられていますが、最近の報告^{*1}において、抗EGFR抗体薬を一度休むことで、薬剤耐性として生じたRAS遺伝子異常を持つ細胞が休止期間とともに減少することが分かってきました。さらに、薬剤耐性後、リキッドバイオプシーによるRAS遺伝子検査を行い、三次治療としてセツキシマブを投与した臨床試験^{*2}では、RAS遺伝子に異常がある患者に比べて異常がない患者においてセツキシマブの効果があることが報告され、抗EGFR抗体薬の再投与(リチャレンジ)の有効性が示されました。

リキッドバイオプシーを用いたRAS遺伝子検査はがん組織の採取が不要であり、結果報告までの時間が短いことも大きな利点です。このようなことから、日本臨床腫瘍学会のガイドンスでは、リチャレンジを含む、抗EGFR抗体薬の投与前に、患者への負担が少ないリキッドバイオプシーによるRAS遺伝子検査を行うことは、抗EGFR抗体薬の適応判定のために有用であると考えています。また、RAS遺伝子異常の有無について、経時的なモニタリングを行いながら、リチャレンジのタイミングを決定するという治療戦略も期待されています(図6)。そのため、同ガイドンスでは、切除不能進行再発大腸がん患者に対し、抗EGFR抗体薬の適応判定および治療効果モニタリングを目的として、リキッドバイオプシーによるRAS遺伝子検査を実施することを「推奨する」と記載しています。

^{*1} Parseghian CM, et al. *Ann Oncol.* 2019; 30(2): 243-249

^{*2} Cremolini C, et al. *JAMA Oncol.* 2018; 5(3): 343-350

図6. 抗EGFR抗体薬のリチャレンジ(イメージ)



おわりに

リキッドバイオプシーは、患者の身体的・精神的負担が小さく、かつ必要なタイミングで遺伝子検査ができること、さらに複数回実施可能というのが大きな利点です。これにより、抗EGFR抗体薬の再投与（リチャレンジ）を考慮する時に、その時点でのRAS遺伝子異常を測定することで、一人ひとりに合った、より効果の高い治療薬の選択（個別化医療）ができるようになりました。また、リキッドバイオプシーによる遺伝子異常の検出感度は飛躍的に向上しており、今後は早期効果予測や切除後のがん組織残存の検出などへの応用も期待されています。

リキッドバイオプシーによる遺伝子検査の対象となりうるかに関しては主治医の先生とご相談ください。



監修者プロフィール

賀川 義規(かがわ よしのり)

大阪急性期・総合医療センター 下部消化管外科 副部長

2002年 富山医科薬科大学卒業

2002年 大阪大学医学部附属病院 高度救急救命センター研修医

2003年 市立豊中病院 救急科専攻医

2004年 市立豊中病院 外科専攻医

2007年 市立豊中病院 大腸外科 医員

2009年 大阪大学大学院 消化器外科学 大学院 博士課程

2013年 関西労災病院 下部消化管外科 医長

2013年～2016年

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 生体イメージング
招聘研究員

2017年 関西労災病院 下部消化管外科 副部長

2020年～大阪急性期・総合医療センター 下部消化管外科 副部長(現職)

所属学会

日本外科学会 専門医、指導医

日本消化器外科学会 消化器がん外科治療認定医、専門医、指導医

日本消化器病学会 専門医、指導医

日本大腸肛門病学会 専門医、指導医

日本外科感染症学会 評議員、外科周術期感染管理医、教育医

日本内視鏡外科学会 技術認定医(大腸)、ロボット手術プロクター(大腸)

日本ロボット外科学会 Robo-Doc Pilot 国内B級認定

2022年2月 現在

リキッドバイオプシーと遺伝子検査 ～切除不能進行再発大腸がんを例に～

非売品

2021年1月 初版 発行

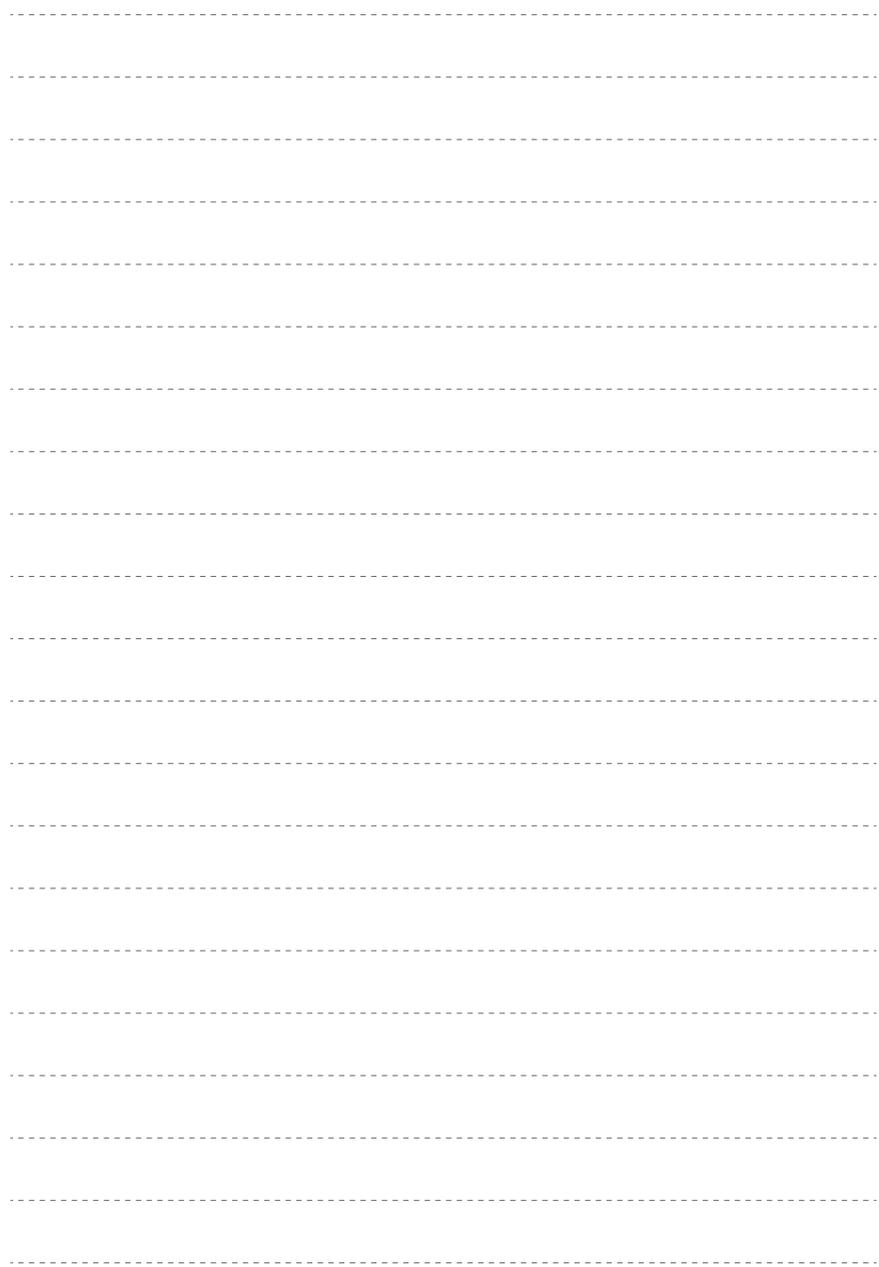
2022年6月 第2版第1刷発行

監 修 者：賀川 義規

発 行：シスメックス株式会社 学術本部
神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241

MEMO

A series of horizontal dashed lines for writing.



発行元

シスメックス株式会社 学術本部

神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241

Tel 0120-413-034

www.sysmex.co.jp



注：活動及びサイトの適用範囲は規格により異なります。
詳細は www.tuv.com の ID: 010580041 を参照。

