

**【目的】** 原発腫瘍組織のパネルシーケンスから同定した遺伝子変異を対象に、腫瘍由来血中循環 DNA (circulating tumor DNA、以下 ctDNA) の変異アリル頻度 (腫瘍由来 DNA の血中全 DNA に対する比率、variant allele frequency : VAF) を計測すると、1. 化学療法に連動して VAF が変化する、2. 治療後 VAF の変化量により予後の層別化ができる、3. 画像で確認される再発に先行して VAF が上昇する、ということが示唆されている。ctDNA は、分子標的薬や免疫チェックポイント阻害剤を投与する切除不能進行肝細胞癌においても、1. 治療効果や予後予測に活用できる可能性、2. 画像検査よりも早期に増悪や再発を捉える可能性がある。しかしながら、切除不能進行肝細胞癌は出血や播種リスクを理由として原発腫瘍組織の採取が避けられてきた。したがって、切除不能進行肝細胞癌に対する ctDNA の臨床的有用性を検証するためには、生検リスクを回避した代替手段による評価が求められていた。本研究は、治療前の ctDNA を対象に次世代シーケンサー解析 (NGS) を行い、追跡すべき遺伝子変異を同定する。同定した遺伝子変異について、超高感度デジタル PCR (dPCR) で追跡することで、切除不能肝細胞癌患者に対する ctDNA による治療効果予測や体内腫瘍量モニタリングを行うことの臨床的有用性を検証することを目的とした。

**【方法】** 分子標的薬の開始前および治療開始後の定期受診時に通常採血と同時に ctDNA 抽出用の血液 10 cc を採取した。キアゲン社の QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit を用いて、0.5~1 ng/ $\mu$ L の最終溶液でトータル 15 ng 以上 (溶媒は ddH<sub>2</sub>O またはキアゲン社の Elution Buffer を用いる) に調製した。ctDNA のパネルシーケンス解析は、委託アッセイ契約を締結した企業および国内共同研究契約を締結した研究期間で実施した。パネルシーケンスで同定した遺伝子変異について、0.01% の VAF でも安定した測定が可能な超高感度 PCR 機器、digital PCR で測定した。

**【結果】** 切除不能肝細胞癌症例 9 例について、ctDNA を対象としたパネルシーケンスを実施した。その結果、9 例中 8 例 (88.9%) について digital PCR での追跡対象となる遺伝子変異を同定した。8 例中 3 例について、digital PCR による治療経過中の経時的な ctDNA の追跡を行い、CT 検査などの臨床情報と対比した。その結果、追跡対象とした遺伝子変異について digital PCR による経時的な追跡が可能であることを確認した。特に、治療奏功が得られた症例では、ctDNA が鋭敏に低下し、その後 ctDNA は持続的に陰性化することが明らかとなった。

切除不能肝細胞癌に対する分子標的薬治療で画像上奏功が得られた症例についての ctDNA モニタリングの 1 例

### TP53 (c.844C>T, p.R282W)

肝がん症例 期間：2019.8~現在

