

早期胃がんに対する新たなリキッドバイオプシー検査の開発

論文: **Blood Free-Circulating DNA Testing of Methylated RUNX3 Is Useful for Diagnosing Early Gastric Cancer.**

Eizabourou Hideura, Yutaka Suehiro, Jun Nishikawa, Takuya Shuto, Hiroyuki Fujimura, Shunsuke Ito, Atsushi Goto, Kouichi Hamabe, Issei Saeki, Takeshi Okamoto, Shingo Higaki, Ikuei Fujii, Chieko Suzuki, Tomomi Hoshida, Toshihiko Matsumoto, Taro Takami, Isao Sakaida and Takahiro Yamasaki
Cancers 2020, 12(4), 789; <https://doi.org/10.3390/cancers12040789>

【概要】

早期胃がんの診断ツールとして、RUNX3 遺伝子をターゲットとし、血清 0.4mL と微量検体で定量測定可能な高感度メチル化解析法を開発しました。そのツールにて、早期胃がん診断の検査感度 50.0%、特異度 80.3%を示しました。

【背景】

本邦の胃がんの罹患者数および死亡者数はそれぞれ第 2 位と第 3 位を占め、今なお年間約 4.4 万人の方が亡くなられています。一方、早期胃がんの予後は非常に良好(5 年生存率:95%以上)であり、ほぼ完治が期待できるがんのひとつです。現時点では、胃がんを早期に発見するには胃内視鏡検査しかありませんが、侵襲および高コストを伴う検査であり、低コストで侵襲が少ない検査が望まれます。

その候補としてリキッドバイオプシー検査(血漿や血清中に浮遊している癌細胞や腫瘍特異的な遺伝子変化を検出する方法)がありますが、胃がん診断のリキッドバイオプシー検査は実用化されていません。がんは遺伝子の異常により起こる病気であり、その遺伝子異常の一つとして DNA(遺伝子)メチル化があります。胃がんによるメチル化遺伝子として RUNX3 がよく知られていますが、今までの既存のアッセイ法によるリキッドバイオプシー検査では、早期胃がんを含むステージ 1 の検査感度は 0~19.0%と不良でした。そこで、われわれの研究グループは、大腸がん(注 1)および肝臓がん(注 2)で培ってきた技術を用い、RUNX3 高感度メチル化解析法を開発し、微量検体(血清 0.4mL)で、かつ高感度な定量化に成功しました。

【研究の成果】

保存血清から DNA を抽出し、われわれが独自で開発した高感度メチル化解析法(特許出願)にて RUNX3 メチル化レベルを定量します。すなわち、3 種類のメチル化感受性制限酵素で処理すると、メチル化 DNA は残存するため、デジタル PCR を用いることで、従来技術の 100 倍の感度で定量化が可能となります。

対象は、健常コントロール 61 名、早期胃がん患者 50 名の計 111 名です。

RUNX3 メチル化レベルの中央値は健常コントロール 2.8 コピー、早期胃がん 6.4 コピーと早期胃がん患者で有意に上昇を認めました(図 1)。

健常コントロールと早期胃がん患者における ROC 解析にて、6.4 コピーをカットオフ値とした場合、検査感度 50.0%、特異度 80.3%が得られました。

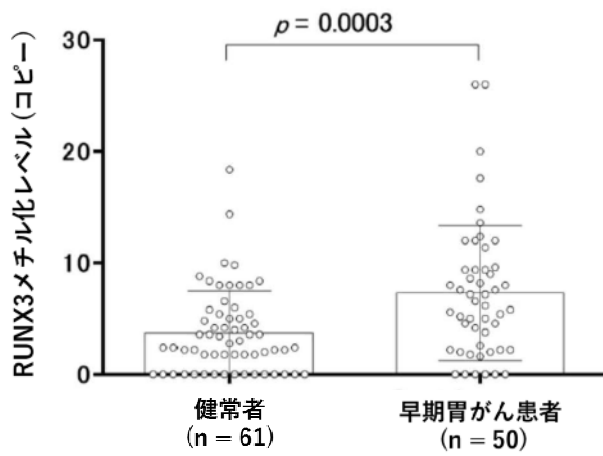


図1: 健常コントロールと早期胃がんと
RUNX3 メチル化レベル

RUNX3 メチル化レベルは、腫瘍径の増大・粘膜浸潤の程度・脈管浸潤の程度と関連しており、胃がん治療後は有意に低下しました(図2: 中央値 6.4 コピー→2.7 コピー)。

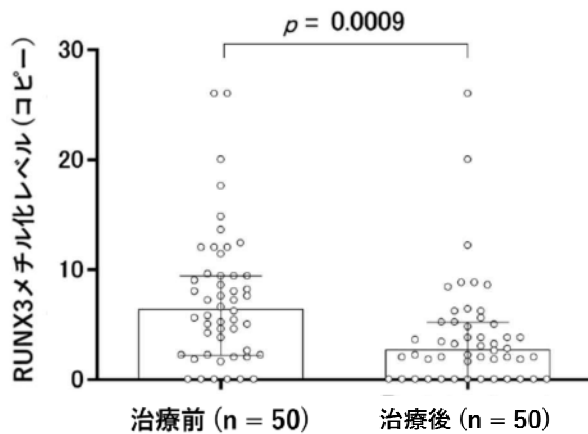


図 2: 早期胃がん治療前後の RUNX3
メチル化レベルの推移

【研究の意義と今後の展望】

われわれ研究グループが早期胃がんに対して開発した新たなリキッドバイオプシー検査は、簡便かつ微量検体測定可能で低コストの検査法であり、新規の胃がんスクリーニング検査として有用ではないかと考えています。今後、実用化に向けた研究を展開していく予定です。

(注1) TWIST1 遺伝子の高感度メチル化解析法にて、大腸がんの検出感度 44.4%、特異度 92.0%を得ている。

Suehiro Y, Hashimoto S, Higaki S, Fujii I, Suzuki C, Hoshida T, Matsumoto T, Yamaoka Y, Takami T, Sakaida I, Yamasaki T.

Blood free-circulating DNA testing by highly sensitive methylation assay to diagnose colorectal neoplasias.

Oncotarget. 2018 Mar 30;9(24):16974-16987.

(注2) SEPT9 遺伝子の高感度メチル化解析法にて、肝がんの検査感度 63.2%、特異度 90.0%を得ている(山口大学ホームページのトピックス 2020/3/13 掲載)。

Kotoh Y, Suehiro Y, Saeki I, Hoshida T, Maeda M, Iwamoto T, Matsumoto T, Hidaka I, Ishikawa T, Takami T, Higaki S, Fujii I, Suzuki C, Shindo Y, Tokumitsu Y, Nagano H, Sakaida I, Yamasaki T.

Novel Liquid Biopsy Test Based on a Sensitive Methylated SEPT9 Assay for Diagnosing Hepatocellular Carcinoma.

Hepatol Commun. 2020 Jan 2;4(3):461-470.