

総 説

乳がんにおけるリキッドバイオプシーの現状と展望

増 田 隆 明 中 屋 美 咲 沖 豊 和

要旨：乳がん診療において、リキッドバイオプシーは血液や体液を用いて腫瘍由来の分子情報を非侵襲的かつ包括的に取得する技術として注目されている。本技術は、血中遊離DNA (circulating tumor DNA ; ctDNA)、循環腫瘍細胞 (circulating tumor cells ; CTC)、マイクロRNA (microRNA ; miRNA) といった分子を対象とし、早期診断、再発・転移の予測、治療効果のモニタリング、さらには薬剤抵抗性の検出においてその応用が期待されている。特に、ctDNAは腫瘍特異的な遺伝子変異やメチル化パターンに関する情報を提供し、分子再発の早期検出や有効な治療薬選択の指針として、現在最も研究が進展している分野である。リキッドバイオプシーは、乳がんにおける個別化医療のさらなる推進に寄与するだけでなく、がんの基礎研究の発展にも大きく貢献すると考えられる。

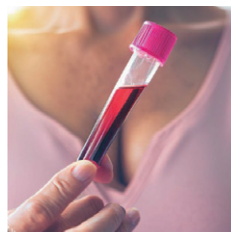
Key Words：リキッドバイオプシー、乳がん、ctDNA、miRNA、CTC

はじめに

日本においてがんは全体の死因の中で最も高い割合を占めており、生涯に2人に1人ががんと診断される時代を迎えている。近年、新たな癌の診断法およびモニタリング法である「リキッドバイオプシー」が注目を集めている¹⁾。リキッドバイオプシーは、血液や体液を利用して、がんおよびがんに対する宿主反応に関する情報を非侵襲的かつ簡便に取得することが可能な検査手法である。さらに、従来の組織生検を超える包括的な情報を提供するツールとして、早期診断、転移や再発の予測、治療抵抗性の早期診断、さらには有効

な治療薬の同定への応用が期待されている(図1)。

リキッドバイオプシーの概念は、1948年にMandelおよびMetaisによって初めて提唱された。その後、診断精度が従来の組織生検と同等以上であることが求められる中で徐々に技術が発展し、現在では一部の悪性腫瘍において臨床応用が実現している。血液や体液中で解析される具体的なターゲット分子としては、血中遊離DNA (cell-free DNA ; cfDNA)、血



- 簡便
- 非侵襲的
- 繰り返しの検査が容易
- リアルタイムな診断
- 網羅するがん情報

図1 リキッドバイオプシーの利点

ますだ たかあき
〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮
高知大学医学部 外科学講座 乳腺腫瘍外科

中遊離マイクロRNA (micro RNA ; miRNA), 循環腫瘍細胞 (circulating tumor cell ; CTC), エクソソームなどの細胞外小胞, 代謝物などが挙げられる。

本稿では, 乳癌におけるリキッドバイオプシーに関して, 代表的な血中のcfDNA, miRNA, CTCに焦点を当て, その現状と将来的な展望について概説する。

がんの転移

がんの転移は, がん細胞が原発巣から離脱し, 血管やリンパ管への侵入 (脈管浸潤), 脈管外への脱出, そして転移先臓器での再増殖という複数の段階を経るプロセスである。通常, 上皮性細胞はE-cadherinなどの細胞接着因子を介して細胞間で強固に結合しているが, 転移過程ではこれらの接着因子が消失し, 遊走能や浸潤能を有する間葉系細胞様への性質変化, すなわち「上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition ; EMT)」が重要と考えられている²⁾。

また, がんの転移においては, がん微小環境における免疫系や宿主細胞との相互作用も極めて重要である。がん微小環境は多様な環境要因に影響を受けるため, がん細胞の転移能は常に動的に変化していると推測される。このような特性を考慮し, 侵襲性が低く, 繰り返し検査が可能で, 腫瘍の時間的および空間的な変動に対応できるリキッドバイオプシー (liquid biopsy) の臨床応用に向けた研究が進められている³⁾。

さらに近年, リキッドバイオプシーを用いてがんの病態や病勢を経時的に評価することにより, 従来の画像診断に比べ生命予後を改善できる可能性が報告された (PADA-1試験, 後述)。リキッドバイオプシーによるがんの新たな診断・治療の枠組み, いわゆるパラダイムシフトが示唆されている。

ctDNA

ctDNAとは

血中cfDNAは, 末梢血中に循環しているDNA断片であり, その多くは血液細胞, 赤血球前駆細胞, 血管内皮細胞から放出される⁴⁾。がん細胞のcfDNAであるcirculating tumor DNA (ctDNA) は, がん細胞のアポトーシスまたはネクローシスに伴い放出され⁵⁾, 腫瘍細胞の包括的なゲノムあるいはエピゲノムの情報を有するため, 現在のがんの臨床および基礎研究の活発な研究対象となっている。

検出方法

DNA断片を抽出後, 次世代シーケンサー (包括的解析) や目的遺伝子をターゲットにしたデジタルPCRなどで検出する。

臨床的意義

現在の診療では, 主として, 癌の進行度を腫瘍の大きさT, リンパ節転移N, 遠隔転移M分類などの解剖学的分類により評価することで, 全身的な微小転移 (微小残存病変) の存在リスクつまり再発リスクの評価を行い, それに基づいて術後再発のリスクを減少させるための周術期治療の方針を決定している。しかし, 診断時にctDNAが検出された乳癌患者は, 解剖学的分類に関わらず, 検出されなかった患者よりも予後不良であることが示されている⁶⁾。

I-SPY2試験では, 295名のHER2陰性乳癌患者を対象に, 術前化学療法終了後に病理学的完全奏功 (pCR) を達成できず, かつctDNA陽性であった患者は, ctDNA陰性であった患者よりも予後不良であることが示された⁷⁾。この結果は, 残存病変の評価にctDNAを適用することで, pCR単独よりも正確に術後治療を選択できる可能性を示唆している。

また, 術後定期フォローアップ検査においてctDNAを検出することは, CTなど画像診

断での再発徴候が見られない場合でもctDNA陽性に変化した患者はすべて画像所見上再発（臨床的再発）を来し、ctDNA検出から臨床的再発までの期間は1年程度であることが示されている^{6), 8)}。したがって、ctDNA陽性は微小残存窩変および再発の早期徴候を示し、「分子再発」という新しい概念が提案されている。周術期治療終了後の定期的なctDNA検査を通じて分子再発を検出し、分子再発に対して薬物療法を施行することは、臨床的再発を防ぐ第二補助療法として予後を改善する可能性がある。

進行再発転移性乳癌（advanced breast cancer；ABC）は、腫瘍細胞の特性が均一ではなく、薬剤抵抗性の原因である多様性が高いことが特徴である。そのため予後を改善する最大の課題の1つは、多様性とくに遺伝子変異などの分子特性をリアルタイムに包括的に把握し、治療選択および治療効果の評価を行うことである⁹⁾。低侵襲で繰り返し採取可能なctDNAは全腫瘍情報を有するため、腫瘍を評価するための理想的なサンプルである¹⁰⁾。

また、最近リアルタイムに血中ctDNAを評価することの臨床的有用性が第III相臨床試験PADA-1試験で報告された¹¹⁾。この試験では、エストロゲン受容体陽性HER2陰性進行乳がんに対する1次治療として、アロマターゼ阻害薬（aromatase inhibitor；AI）とCDK4/6阻害剤パルボシクリブ（PAL）の併用療法で治療中の患者のうち、画像診断上病勢進行と判断される前にctDNAでAI抵抗性を示すエストロゲン受容体（ESR1）変異を獲得した患者を無作為にAI＋PAL継続群とフルベストラント（FUL）＋PAL変更群に2群化して無増悪生存期間（PFS）を比較したところ、FUL＋PAL変更群が2倍以上に良好であった。この結果は、画像診断よりもAI＋PAL治療中の血漿中ESR1変異の上昇に基づいて治療を変更する方が予後を改善する可能性が高いことを示唆している。

この結果により、ESR1変異を持つAI抵抗性腫瘍細胞群が検出され、FULのようなAI抵抗性細胞にも効果が期待される薬剤を選択することが可能になった。以上よりctDNA解析が乳がん治療における新たな時代の重要なツールになると期待されている¹²⁾。

今後の展望

再発予防においては、ctDNAの検出により、残存病変を画像診断よりも高精度に特定できるため、周術期の薬物療法を最適化（強化または縮小）することが可能となる。また、ABCでは、ctDNAの評価を通じて体内全体のがん細胞のゲノム特性をリアルタイムで把握できるため、有効な分子標的薬の選択が可能となる。2024年12月現在、本邦では遺伝子パネル検査としてFoundationOne Liquid® CDxがんゲノムプロファイルのみが標準治療終了後のABCに対し組織を用いた検査の補完的位置付けとして保険適用となっている。

現在進行中の複数の臨床試験を通じて、ctDNA解析に基づく新たな治療戦略の確立が期待されている。さらに、ctDNAを活用したがん転移の病態の基礎研究も期待される。

miRNA

non-coding RNA

non-coding RNA（ncRNA）は、タンパク質に翻訳されるメッセンジャーRNA（mRNA）を除くすべてのRNAを指す。以前は機能を持たない「ジャンクRNA」と見なされていたが、現在では転写、転写後修飾、翻訳、シグナル伝達など、遺伝子発現のさまざまな段階に関与し、機能的な調節分子としての役割が明らかになっている¹³⁾。ncRNAは塩基長に基づいて分類され、300塩基以下のRNAはsmall ncRNAと分類され、その中でもmiRNAは癌研究において最も広く研究さ

れている¹⁴⁾。

miRNAとは

miRNAは、20-25塩基ほどの1本鎖ncRNAである。miRNAは、通常のmRNAと同様にRNAポリメラーゼIIにより転写されたのちプロセッシングを受けて成熟したmiRNAになる。ターゲット遺伝子のmRNAの3'側非翻訳領域に相補的に結合して、そのmRNAを不安定化するとともに翻訳抑制を行うことでタンパク質産生を抑制し、ターゲット遺伝子の発現を抑制する。miRNAはタンパク質をコードする遺伝子の30%以上の遺伝子の発現調節を行うことが予想されている。miRNAが介する転写抑制は、発生、細胞増殖および細胞分化、アポトーシスまたは代謝といった広範な生物学的プロセスに重要な役割を担うなど、遺伝子の転写後調節を行う最も重要な調節因子であると考えられている¹⁵⁾。また、miRNAは血液などの体液にも存在し、エクソソームと呼ばれる細胞外小胞に内包されて分泌されていることから物理的に安定しているため、サイトカインのような細胞間伝達ツールとしても機能し、臨床的に有用なバイオマーカーとしても期待されている¹⁶⁾。

2024年12月1日現在、1900種類以上のmiRNAがmiRNAデータベース(miRBase)に登録されている。

miRNAは、遺伝子の増幅、欠失、転写異常、およびエピジェネティックな修飾を通じて、悪性腫瘍の調節異常に関与している。がんに関わるmiRNAには、がんを促進するOncogenic miRNAと、抑制するTumor Suppressor miRNAがある¹⁷⁾。例えば、乳癌におけるmiR-761はOncogenic miRNAとして機能し、実験的にコロニー形成、細胞移動、浸潤、肺転移の促進に関与している。また、脳、肝臓、骨、リンパ節転移に特異的なmiRNAも同定されている¹⁷⁾。

検出方法

miRNAを抽出後、マイクロアレイ(包括的解析)や目的遺伝子をターゲットにしたPCRで検出する。

臨床的意義

下村らは、1280名の乳癌患者(主にStage IおよびIIの早期癌)および約2000名の健康な成人から保存された血清を用い、miRNA発現プロファイルをアレイ解析を介して、5種類のmiRNA(miR-1246, miR-1307-3p, miR-4634, miR-6861-5p, miR-6875-5p)の組み合わせが乳癌を高精度で検出できることを示した¹⁸⁾。感度97.3%, 特異度82.9%, 総合精度89.7%を達成し、特にStage 0およびStage Iの早期乳癌において感度が非常に高い結果が得られた。同様の研究が多数報告されており、エクソソーム中のmiRNAに焦点を当てた研究も進行中である¹⁹⁾。

ABCにおいても、Souzaらは、転移性乳癌患者と非転移性乳癌患者の血清miRNA発現の違いを明らかにし、11の異なるmiRNA(miR-338-3p, miR-340-5p, miR-124-3pが上方制御, miR-29b-3p, miR-20b-5pなどが下方制御)を報告している²⁰⁾。

今後の展望

miRNAに基づく癌診断には再現性の欠如が課題として挙げられている。miRNAを用いた診断の感度と特異度を評価するメタ解析では、感度67%, 特異度81%, 診断オッズ比10.2という結果であった²¹⁾。感度の一貫性には課題があるものの、エクソソームも含めて有効な治療ターゲットであり、今後の研究が待たれる²²⁾。

CTC

CTCとは

CTCは、腫瘍から血管内に放出され、転移性病変を形成する可能性を持つ循環がん細胞である。1869年に転移性腫瘍患者の血中にCTCが存在することが初めて報告された。癌細胞の全身播種（血行性転移）の指標として用いられる。約30年前より血中の微量がん細胞の検出およびその臨床的意義について研究されている²³⁾。

検出方法

血中の微量がん細胞つまりCTCは、血液中の上皮細胞はほとんどが癌細胞であると想定の下で検出されてきた。具体的には免疫染色法やPCR法を用いて、上皮系マーカーであるサイトカインやCEAなどの検出をもって微量がん細胞陽性とする手法が主であった²⁴⁾。

現在最も広く使用されているCellSearchシステムは、食品医薬品局（FDA）に初めて承認されたCTC抽出法である。上皮マーカーであるEpCAM抗体でコーティングされたフェロフルイド粒子を用いてEpCAM陽性細胞を体液中から磁気的に分離、濃縮し、それらを白血球全般のマーカーであるCD45でnegative selectionし、上皮マーカーであるサイトケラチンでpositive selectionする。しかし、EpCAMは上皮マーカーのためEMTを経たEpCAM陰性CTCを検出できない。また、良性疾患患者にもEpCAM発現が観察されることが問題となっている。現時点では、純粋なCTC集団を分離するための理想的な装置は存在せず、より特異性の高いCTC検出技術の開発が行われている。

臨床的意義

手術可能乳がん患者では、CTC数はABC患者に比べて有意に少ない。診断時における早期乳がん患者のCTC検出率は約20～25%と報告されている。

SUCCESS-A試験では、術後療法前後にCTCを測定し、CTCが検出された乳がん患者は無

病生存期間（DFS）および全生存率OSが不良であることが確認された²⁵⁾。

術前治療における研究では、CTCは治療開始前に約20%の患者で検出されたが、CTC数の動態や病理学的完全奏効との関連は報告されていないが、診断時のCTCの存在はDFSおよびOSの予後不良因子である可能性が示唆された^{25), 26)}。

健常人や良性乳腺疾患の患者と比較して、ABC患者ではCTCの検出率および数が高いことが観察されている²⁷⁾。CTCの高い検出率および個数は、ABC患者における予後不良と関連していることが示されている。具体的には、Cristofanilliらは2004年にCellSearchシステムを用いて177名のABC患者でCTCを検出・測定し、CTC数が5以上の群では無増悪生存期間（PFS）およびOSが有意に短いことを示した²⁸⁾。さらに、診断時の血液7.5 mLあたりCTC数が5以上の患者は、腫瘍サブタイプや転移部位に関係なく、低いCTC数の患者と比較して有意にOSが短いことが、プール解析で確認されている²⁹⁾。

ベースラインでのCTC評価に加え、治療中のCTCモニタリングが予後情報を提供することが示されている³⁰⁾。プール解析では、治療開始3～5週後のCTC数の増加した症例は、PFSおよびOSが有意に短い結果であった³¹⁾。これらの結果は、CTCがABC患者の予後および治療抵抗性の早期検出の重要なバイオマーカーとなる可能性を示唆している。

今後の展望

以上よりCTCは、予後バイオマーカーとしての臨床的有用性を示唆しており、治療反応および臨床転帰の予測を向上させる可能性がある。しかし、CTCの簡便で特異的な抽出法の開発が課題であるが、CTCの生理的および物理的特性を利用した、より高感度で信頼性の高いCTC検出および分離技術の開発が進行中である³²⁾。これらの進展は、CTCの臨床応

用をさらに進め、患者の転帰を改善し、癌治療を前進させる大きな可能性を秘めている。さらに、CTCを抽出することで増殖能の評価などの様々なwet実験だけでなく、近年開発されたシングルセル解析といった1つの細胞の包括的遺伝子解析も可能であることから、cfDNAやmiRNAにはない解析も可能であるため、基礎研究の発展にも貢献することが期待される³³⁾。

おわりに

本稿では、乳癌におけるリキッドバイオプシーの現状と将来的な展望について重要な点を概説した。詳細は各項目の最新reviewを参照されたい。リキッドバイオプシーのターゲット分子の特徴を表1に記した。リキッドバイオプシーは、従来の病理組織検査を技術的、時間的、ならびに情報量の面で凌駕する可能性を秘めた革新的ながん検査手法であり、臨

床応用にとどまらず、癌に関する基礎研究の進展にも寄与することが期待されている。高知大学乳腺腫瘍外科においても、次世代シーケンサーおよびデジタルPCRを活用し、リキッドバイオプシーを用いた進行再発乳癌における治療抵抗性遺伝子の同定およびモニタリング手法の開発を目的とした観察研究を計画している。このような技術の進歩により、血液検査のみで癌の診断から治療薬の選定までが可能となる個別化医療の時代が、近い将来到来するかもしれない。

本稿の内容につき、開示すべき利益相反はありません。

参考文献

- 1) Di Meo A, et al. Liquid biopsy : a step forward towards precision medicine in urologic malignancies. Mol Cancer. 2017 ; 16 (1) : 80.

表1 リキッドバイオプシーのターゲット分子の特徴 (文献32より改変引用)

ターゲット分子	利点	欠点
腫瘍由来循環DNA (ctDNA)	<ul style="list-style-type: none"> • 遺伝子変異をリアルタイムで反映 • 比較的簡便な分離および解析 • ctDNAのエピジェネティック解析により腫瘍の発生部位を推定 • 分子標的治療薬への感受性を示唆 	<ul style="list-style-type: none"> • 腫瘍組織とctDNAで検出される遺伝子変異の不一致 • 早期がん検出には感度が不十分 • 遺伝子変異ががん特異的ではない (擬陽性の可能性)
マイクロRNA (miRNA)	<ul style="list-style-type: none"> • 多くのmiRNAを搭載したmiRNAパネルにより腫瘍のサブタイプを推定 • 血液、体液中で比較的安定 • 治療ターゲット 	<ul style="list-style-type: none"> • 多くは非がん性または良性疾患でも検出 • 前処理条件や年齢、食事、薬物使用などの要因によりmiRNA発現レベルが影響を受ける
循環腫瘍細胞 (CTC)	<ul style="list-style-type: none"> • がん特異性が高い • がん転移に不可欠であり、がんの悪性度を反映 • 予後因子として証明済み • 細胞全体の遺伝子情報を含む • 腫瘍の不均一性解析に適している • 培養可能で、in vitro研究や薬剤感受性試験に利用可能 	<ul style="list-style-type: none"> • 上皮マーカーに基づく分離システムではEMTにより間葉系に変化したCTCを検出できない • CTCのみを抽出することが困難

- 2) Kolbl AC, et al. The Significance of Epithelial-to-Mesenchymal Transition for Circulating Tumor Cells. *Int J Mol Sci.* 2016 ; 17 (8).
- 3) Pantel K, Alix-Panabieres C. Minimal residual disease as a target for liquid biopsy in patients with solid tumours. *Nat Rev Clin Oncol.* 2025 ; 22 (1) : 65-77.
- 4) Moss J, et al. Comprehensive human cell-type methylation atlas reveals origins of circulating cell-free DNA in health and disease. *Nat Commun.* 2018 ; 9 (1) : 5068.
- 5) Bettegowda C, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med.* 2014 ; 6 (224) : 224ra24.
- 6) Garcia-Murillas I, et al. Assessment of Molecular Relapse Detection in Early-Stage Breast Cancer. *JAMA Oncol.* 2019 ; 5 (10) : 1473-8.
- 7) Magbanua MJM, et al. Clinical significance and biology of circulating tumor DNA in high-risk early-stage HER2-negative breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Cell.* 2023 ; 41 (6) : 1091-102 e4.
- 8) Parsons HA, et al. Sensitive Detection of Minimal Residual Disease in Patients Treated for Early-Stage Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2020 ; 26 (11) : 2556-64.
- 9) Garcia-Recio S, et al. Multiomics in primary and metastatic breast tumors from the AURORA US network finds microenvironment and epigenetic drivers of metastasis. *Nat Cancer.* 2023 ; 4 (1) : 128-47.
- 10) Alix-Panabieres C, Pantel K. Liquid Biopsy : From Discovery to Clinical Application. *Cancer Discov.* 2021 ; 11 (4) : 858-73.
- 11) Bidard FC, et al. Switch to fulvestrant and palbociclib versus no switch in advanced breast cancer with rising ESR1 mutation during aromatase inhibitor and palbociclib therapy (PADA-1) : a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2022 ; 23 (11) : 1367-77.
- 12) Berger F, et al. Randomised, open-label, multicentric phase III trial to evaluate the safety and efficacy of palbociclib in combination with endocrine therapy, guided by ESR1 mutation monitoring in oestrogen receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer patients : study design of PADA-1. *BMJ Open.* 2022 ; 12 (3) : e055821.
- 13) Zhang Z, et al. Small non-coding RNAs in human cancer : function, clinical utility, and characterization. *Oncogene.* 2021 ; 40 (9) : 1570-7.
- 14) Peng Y, Croce CM. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2016 ; 1 : 15004.
- 15) Syed Najmuddin SUF, et al. The linkage between microRNA and cancer and its delivery as cancer therapy : A mini-review. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2023 ; 69 (7) : 7-18.
- 16) Kondracka A, et al. Occurrence, Role, and Challenges of MicroRNA in Human Breast Milk : A Scoping Review. *Biomedicines.* 2023 ; 11 (2).
- 17) Baldasici O, et al. Breast Cancer-Delivered Exosomal miRNA as Liquid Biopsy Biomarkers for Metastasis Prediction : A Focus on Translational Research with Clinical Applicability. *Int J Mol Sci.* 2022 ; 23 (16).
- 18) Shimomura A, et al. Novel combination of serum microRNA for detecting breast cancer in the early stage. *Cancer Sci.* 2016 ; 107 (3) : 326-34.
- 19) Hannafon BN, et al. Plasma exosome microRNAs are indicative of breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2016 ; 18 (1) : 90.
- 20) Souza KCB, et al. Identification of Cell-Free Circulating MicroRNAs for the Detection of Early Breast Cancer and Molecular Subtyping. *J Oncol.* 2019 ; 2019 : 8393769.
- 21) Hong F, et al. Exosomal microRNAs as novel diagnostic biomarkers in breast cancer : A systematic evaluation and meta-analysis. *Asian J Surg.* 2023 ; 46 (11) : 4727-36.

- 22) Mamalo AS, et al. Potential roles of the exosome/microRNA axis in breast cancer. *Pathol Res Pract.* 2023 ; 251 : 154845.
- 23) Mori M, et al. Clinical significance of molecular detection of carcinoma cells in lymph nodes and peripheral blood by reverse transcription-polymerase chain reaction in patients with gastrointestinal or breast carcinomas. *J Clin Oncol.* 1998 ; 16 (1) : 128-32.
- 24) Masuda T, et al. Clinical and biological significance of circulating tumor cells in cancer. *Mol Oncol.* 2016 ; 10 (3) : 408-17.
- 25) Bidard FC, et al. Circulating Tumor Cells in Breast Cancer Patients Treated by Neoadjuvant Chemotherapy : A Meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2018 ; 110 (6) : 560-7.
- 26) Pierga JY, et al. Circulating tumor cell detection predicts early metastatic relapse after neoadjuvant chemotherapy in large operable and locally advanced breast cancer in a phase II randomized trial. *Clin Cancer Res.* 2008 ; 14 (21) : 7004-10.
- 27) Allard WJ, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res.* 2004 ; 10 (20) : 6897-904.
- 28) Cristofanilli M, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2004 ; 351 (8) : 781-91.
- 29) Cristofanilli M, et al. The clinical use of circulating tumor cells (CTCs) enumeration for staging of metastatic breast cancer (MBC) : International expert consensus paper. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2019 ; 134 : 39-45.
- 30) Hayes DF, et al. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin Cancer Res.* 2006;12(14 Pt 1): 4218-24.
- 31) Bidard FC, et al. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer : a pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2014 ; 15 (4) : 406-14.
- 32) Lawrence R, et al. Circulating tumour cells for early detection of clinically relevant cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2023 ; 20 (7) : 487-500.
- 33) Ring A, et al. Biology, vulnerabilities and clinical applications of circulating tumour cells. *Nat Rev Cancer.* 2023 ; 23 (2) : 95-111.

Current Status and Future Perspectives of Liquid Biopsy in Breast Cancer

Takaaki Masuda, Misaki Nakaya, Toyokazu Oki

Abstract: In breast cancer management, liquid biopsy has garnered significant attention as a non-invasive and comprehensive method for obtaining tumor-derived molecular information from blood and other body fluids. This technology targets molecules such as circulating tumor DNA (ctDNA), circulating tumor cells (CTCs), and microRNA (miRNA), and it holds great potential for applications in early diagnosis, prediction of recurrence and metastasis, monitoring of therapeutic efficacy, and detection of drug resistance. Among these, ctDNA provides valuable insights into tumor-specific genetic mutations and methylation patterns, making it a key focus of current research for the early detection of molecular recurrence and guidance in selecting effective therapeutic agents. Liquid biopsy is expected not only to further advance precision medicine in breast cancer care but also to significantly contribute to the progress of basic cancer research.

Key Words: Liquid biopsy, Breast cancer, ctDNA, miRNA, CTC