

# 論文内容の要旨

***BRAF* V600E mutations in right-side colon cancer:**

**Heterogeneity detected by liquid biopsy**

リキッドバイオプシーによる Heterogeneity の検出

日本医科大学大学院研究科 消化器外科分野

大学院生 上田 康二

*European Journal of Oncology* 掲載予定

## 【背景】

BRAFV 600E 変異を有する転移性結腸直腸癌患者の予後は通常不良である。BRAFV 600E 変異は、結腸直腸癌の西洋人患者の 10%以上に存在し、日本人患者の 6.0~6.5%に存在するとされる。しかし、変異頻度が右側結腸癌に多いという報告もあり、その頻度は明らかではない。BRAF V600E 変異のある患者の治療戦略は、BRAF V600E 変異のない患者とは異なることから、腫瘍の特徴を知ることは重要である。

リキッドバイオプシーは、血液中の循環無細胞 DNA (cfDNA) または循環腫瘍細胞 (CTC) を使用することで Heterogeneity の解析に有用である。リキッドバイオプシーを使用して RAS 変異を検出する多くの研究が報告されているが、結腸直腸癌の患者で BRAF V600E を検出するための研究はほとんどない。

本研究では右側結腸癌における BRAF V600E 変異頻度を検討し、リキッドバイオプシーを使用して BRAFV 600E 変異の検出率を決定し、BRAF V600E 変異の Heterogeneity について検討した。

## 【方法】

2015 年 4 月から 2020 年 3 月に日本医科大学と埼玉医科大学で原発腫瘍が切除された右側結腸癌（盲腸、上行結腸、横行結腸）の患者を対象とした。癌組織の手術サンプルまたは FFPE サンプルより組織由来の DNA を抽出し、同時に術前血漿より cfDNA を抽出した。それぞれの DNA サンプルを BRAF V600E probe を用いて ddPCR を実施しそれぞれの変異検出率の比較を行った。

## 【結果】

右側結腸癌 215 人を対象とし、171 人の患者が治癒的結腸手術を受け、12 人の患者が治癒的結腸手術と肝臓転移切除を受け、32 人の患者が緩和手術を受けた。BRAF V600E 変異は、215 人の患者組織サンプルのうち 35 個で検出された。また、盲腸癌の患者 58 人中 13 人 (22.4%)、上行結腸癌の患者 90 人中 16 人 (17.8%)、および横行結腸癌の患者 67 人中 6 人 (9.0%) で検出され、頻度は盲腸の腫瘍で最も高かった。また、215 人中 10 人 (4.7%) の患者の血漿で変異が検出された。10 人の患者のうち 8 人 (ステージ II : 2、ステージ III : 1、ステージ IV : 5) は、原発腫瘍に BRAF V600E 変異を認めたが、2 人の患者 (両方ともステージ IV) では検出されなかった。BRAF V600E 変異を検出するためのリキッドバイオプシーの感度は、すべての患者で 22.8%、ステージ I-III の患者で 10.3%、ステージ IV の患者で 83.3% (5/6) であり、ステージ IV の検出率はステージ I-III 期の検出率よりも有意に高かった。組織サンプルに BRAF V600E 変異がないステージ

I-III の患者は、血漿に BRAF V600E 変異を認めなかった。ただし、組織サンプルに BRAFV600E 変異がない 38 人中 2 人 (5.3%) のステージ IV 患者で、血漿に BRAF V600E 変異を認めた。

すべての患者を対象とすると、組織の BRAF V600E 変異は OS に影響を与えなかった一方で、血漿中に BRAF V600E 変異を有すると、OS を低下させた。また、ステージ I-III の患者では、組織の BRAF V600E 変異は RFS と OS に影響を与えなかったが、血漿中の BRAF V600E 変異は、RFS には影響を与えなかったが、OS を低下させた。ステージ IV の患者では、組織の BRAFV600E 変異は OS に影響しなかったが、血漿の BRAF V600E 変異は OS を低下させた。全症例における OS の多変量解析では、血漿 BRAFV600E 変異と、リンパ節転移、ステージ IV が独立した危険因子であった。

#### 【考察】

本研究では、3つの重要な点を明らかにした。第一に、日本人集団における右側結腸癌の BRAF V600E 変異頻度は低くはなく、腫瘍の位置によって異なった。第二に、血漿中の BRAF V600E 変異の検出率は、ステージ I-III の患者よりもステージ IV の患者の方が高かった。第三に、BRAF V600E 変異においても heterogeneity の存在が示された。

右側結腸癌の BRAFV600E 突然変異頻度は 16.3%であった。アジアの結腸癌患者の BRAFV600E 突然変異頻度は一般に約 5%と考えられているため、左側結腸の頻度よりも高い可能性がある。西洋人の BRAFV600E 変異頻度はアジア人の 2 倍であると報告されているが、西洋人の間で最大の BRAFV600E 突然変異頻度 (15%) は、肝屈曲 8 で発生し、本研究で見つかったレベルとほぼ等しかった。全体的な BRAFV600E 変異頻度の変動は、腫瘍の位置に依存し人種には依存しないことが示唆された。

血漿中の BRAF V600E 変異の検出率は、ステージ I~III の患者よりもステージ IV の患者の方が高く、感度はステージ IV の患者で 83.3%であり、ステージ I~III で 10.3%であった。さらに、血漿中の BRAFV600E 変異を有する患者の予後は悪化した。

本研究では、BRAF V600E 変異は、原発腫瘍から得られた組織サンプルに BRAF V600E 変異がなく、ステージ IV 患者 38 人中 2 人 (5.3%) の血漿で検出された。したがって、原発巣に BRAF V600E 変異を認めない症例において転移巣に BRAF V600E 変異が存在した可能性が示唆され、空間的 Heterogeneity の存在が示された。

この研究は BRAF V600E 変異を有する症例は 35 例であり、リキッドバイオプシーを使用して突然変異率が腫瘍部位によって異なるかどうかを判断するには少ないと考えられた。また、2施設による小規模コホートであり、さらに追跡期間が短かったため、BRAF

V600E 変異が長期生存に及ぼす影響が少なかったと考えられる。

#### 【結論】

BRAF V600E 変異は、右側結腸癌、特に盲腸癌で高頻度であった。また、BRAF V600E 変異は血漿で検出でき、進行がん患者では検出率が高く、リキッドバイオプシーを使用して、空間的不均一性が示された。

血漿中の BRAFV600E 変異を有する患者の予後は、組織でのみ検出される BRAFV600E 変異を有する患者よりも悪く、リキッドバイオプシーを使用した BRAFV600E 変異の検出は、結腸直腸癌の患者にとって大きなメリットがあると考えられる