

論 文 内 容 の 要 旨

PIK3CA mutation detected by liquid biopsy in patients with metastatic breast cancer

(訳) 転移性乳癌患者におけるリキッドバイオプシーでの *PIK3CA* 変異の検出

日本医科大学大学院医学研究科医学専攻生体制御再生医学領域 乳腺外科分野
大学院生 中井 麻木

Jornal of Nippon Medical School 2022 年掲載予定

【背景】

乳癌は、ホルモン受容体と HER2(Human Epidermal Growth Factor Receptor Type2)の観点から、Luminal A、Luminal B、TN(Triple Negative)、HER2-enriched の4つのサブタイプに分類される。乳癌はこれらのサブタイプに応じて治療方針が決められているが、遺伝子異常がこれらの治療戦略、効果に影響を与える。

PIK3CA は乳癌の 21~35%で変異が認められ、E542K、E545K、H1047R/L の3つのホットスポットが存在し、これらは全ての *PIK3CA* 変異の約 70~80%を占めている。*PIK3CA* 変異の頻度は、Luminal A または B タイプおよび HER2-enriched タイプで高く、またトラスツマブ抵抗性の原因の一つであり、さらにエストロゲン受容体陽性患者ではアロマターゼ阻害剤による良好な転帰と関連している。

転移性乳癌では原発巣と転移巣の間では *PIK3CA* 変異の不一致率が高く（空間的不均一性）、転移巣における *PIK3CA* の状態を評価することが非常に重要である。しかしながら、従来から行われている転移巣の生検は、肝生検や肺生検にしても多くのリスクを伴う。さらに、常に適切なサンプルが得られ、分析が可能であるとは限らない。また、採取された時期からの時間経過が現在の腫瘍の分子特性を反映していない可能性がある（時間的不均一性）。

リキッドバイオプシーは血漿由来の循環腫瘍 DNA(ctDNA)やエクソソーム由来の DNA(exoDNA)を分析する侵襲性が低い検査方法であり、遺伝子変化をリアルタイムに把握することができる。本研究ではリキッドバイオプシーで転移性乳癌患者における *PIK3CA* 変異の検出を目的とした。

【方法】

対象は遠隔転移を有し、病理組織学的に乳癌と診断され、2020年4月から同年9月の間に血液サンプルが得られた症例である。末梢血を採取し、血漿を分離、血漿 1 mL から ctDNA を抽出、さらに血漿 1 mL からエクソソームを分離し、エクソソームから exoDNA を抽出した。腫瘍組織からも DNA を抽出した(組織DNA)。Droplet digital PCR を用いて、ctDNA、exoDNA、組織 DNA のそれぞれにおいて *PIK3CA* の E542K、E545K、H1047R/L 変異を検出した。

【結果】

52人(Luminal A 25例、Luminal B 14例、HER2-enriched 5例、TN 8例)が登録された。52人のうち、33人は手術により切除された腫瘍組織、残りの19人は針生検で採取された腫瘍組織が用いられた。52人のうち、20%の Luminal A、36%の Luminal B、20%の HER2-enriched、および 25%の TN、それぞれから腫瘍サンプルまたは血液サンプルより *PIK3CA* 変異が検出された。52人のうち、13人は腫瘍組織に *PIK3CA* の変異を有しており、8人はエクソン9変異 (E542K、E545K)、6人がエクソン20変異 (H1047L および H1047R) であった。*PIK3CA* に2つの変異を有する患者は1人だけであった。腫瘍組織に *PIK3CA* 変異を有する13人のうち9人(69%)はER陽性であった(Luminal A 5人、Luminal B 4人)。

腫瘍組織採取からリキッドバイオプシー施行までの間隔は0-288ヶ月（中央値33ヶ月）であった。ctDNAの濃度はexoDNAの濃度より有意に高かった。52人のうち5人（9%）でctDNAから*PIK3CA*変異が検出され、6人（11%）でexoDNAから*PIK3CA*変異が検出され、3人（6%）でctDNAとexoDNAの両者から*PIK3CA*変異が検出された。8人（15%）でctDNAまたはexoDNAのいずれかを用いて*PIK3CA*変異が検出された。検出感度はctDNAを用いた場合31%（4/13）、exoDNAを用いた場合23%（3/13）、ctDNAとexoDNA両者を用いた場合38%（5/13）であった。リキッドバイオプシーで*PIK3CA*変異が同定された8人のうち5人は腫瘍組織に*PIK3CA*変異を有していた。腫瘍組織採取からリキッドバイオプシー実施までの期間および治療内容は、腫瘍組織に*PIK3CA*変異が同定されなかった3人を含め様々であった。

【考察】

本研究で3つのことが明らかになった。第一にリキッドバイオプシーで*PIK3CA*変異が検出できるが、感度は低いこと、第二にリキッドバイオプシーで不均一性（空間的および時間的）が検出可能であること、第三にexoDNAはリキッドバイオプシーで得られる情報源として有望であることである。

本研究における*PIK3CA*変異の検出感度は38%であった。乳癌におけるリキッドバイオプシーによる*PIK3CA*変異の検出感度は26~93%と報告されている。一般に検出感度は病勢が進行した症例で高く、治療開始後では低下する。本研究ではほとんどの患者で治療開始後に血液検体を採取していたことが検出感度の低かった原因と考えられる。リキッドバイオプシーによる検査を行う場合には常に偽陰性の可能性を考慮する必要がある。

腫瘍組織から*PIK3CA*変異が検出されなかった36人中3人（8%）からリキッドバイオプシーで*PIK3CA*変異が検出された。この3例は全てER陽性乳癌であり、全てがホルモン療法を受けており、そのうち2人は既往の化学療法のレジメン数も多く、これらの治療が*PIK3CA*変異を誘導した可能性がある。

本研究では乳癌サブタイプと*PIK3CA*変異の有意な関連性は認められず、また、治療効果と*PIK3CA*変異との関連は調べられなかった。これらは今後の研究課題である。

6人でexoDNAから*PIK3CA*変異が検出された。本研究は乳癌患者でexoDNAを用いて遺伝子変異を検出した最初の報告である。ctDNAとexoDNAを併用することで、変異検出感度が上昇する可能性が示唆された。