

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

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

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 乳腺外科学分野  
大学院生 中井 麻木

Journal of Nippon Medical School, volume 89, number 1, 2022 掲載予定

*PIK3CA* は腫瘍の進行と関連し、乳癌ではその変異陽性率が高いと報告されている。Liquid biopsy(LB)は、血漿由来の循環腫瘍 DNA(ctDNA)、エクソソーム由来の DNA(exoDNA)を分析でき、便利で侵襲性が低い検査方法であり、リアルタイムで遺伝子変化を把握することができる。本研究では、LB を用いて乳癌患者の *PIK3CA* の変異の検出を試みた。

対象は、組織学的に乳癌と確定された遠隔転移を有する患者で、2020年4月から2020年9月の間に末梢血液検体が得られた52人の患者である。末梢血液から血漿を分離、血漿1mLからctDNAを抽出、さらに血漿0.8mL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。さらに腫瘍組織からDNAを抽出した(組織DNA)。Droplet digital PCRを用いて、ctDNA、exoDNA、組織DNAのそれぞれで*PIK3CA*のE452K、E454K、H1047R/L変異を検出した。

52人中13人(25.0%)の腫瘍組織から*PIK3CA*変異を有するDNAが同定された。変異の内訳はエクソン9変異(E542K、E545K)が8人、エクソン20変異(H1047L、H1047R)が6人、両者の変異(E542K、H1047R)が1人であった。52人中8人(15.4%)の血液からLBにより*PIK3CA*変異が検出された。ctDNA変異が5人(9.6%)、exoDNA変異が6人(11.5%)、両者の変異が3人(5.8%)であった。検出感度は腫瘍組織に変異を有する13人中、ctDNAを用いた場合4人(30.8%)、exoDNAを用いた場合3人(23.1%)、ctDNAとexoDNA両者を用いた場合5人(38.5%)であった。一方、血液から*PIK3CA*変異が検出された8人中3人では原発腫瘍に*PIK3CA*変異が認められなかった。腫瘍組織採取からLBまでの期間は0-288ヶ月(中央値33ヶ月)で、そ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。52人の乳癌組織のサブタイプはLuminal A-like:25人、Luminal B-like:14人、HER2-enriched:5人、Triple negative:8人であり、それぞれ、28.0%(7/25)、35.7%(5/14)、20.0%(2/5)、25.0%(2/8)で腫瘍または血液から*PIK3CA*変異が検出された。

本研究における*PIK3CA*変異の検出感度は38.5%であったが、既報では26~93%である。乳癌サブタイプと*PIK3CA*変異の有無との有意な関連性は認められなかった。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下の原因と考えられた。ctDNA の同定は体内腫瘍量に依存すると考えられ、LB では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 39 人中 3 人 (7.7%) は LB で *PIK3CA* 変異が検出された。この 3 人は全て Luminal タイプであり、全てがホルモン療法を受けており、2 人は化学療法の投与レジメン数も多く、これらの治療が *PIK3CA* 変異を誘導した可能性も考えられる。6 人で exoDNA の *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り、ctDNA に加え exoDNA 解析を併用することで、変異検出感度が上昇する可能性が示唆された。

本研究により以下の価値ある結果が得られた。LB で *PIK3CA* 変異が検出できるがその感度が低かった。LB で腫瘍遺伝子変異の不均一性 (空間的または時間的) が検出可能であった。exoDNA は腫瘍遺伝子変異の情報源として有望と考えられた。

本研究には以下の限界事項がある。単施設での限られた患者数であり、治療効果と *PIK3CA* 変異の有無との関連性は検討されず、また、ctDNA と exoDNA を比較することはできず、それぞれの変異の生存期間に及ぼす影響も評価できなかった。さらに、血液検体はすべて薬物療法後に採取されたため、腫瘍組織検体と血液検体における *PIK3CA* 変異の不一致が空間的なものか時間的なものか不明であった。

第二次審査では、exoDNA を測定した理由、原発腫瘍と転移腫瘍いずれかの採取による結果の相違、エクソソームの分離の精度、*PIK3CA* 変異検出感度の低い理由、感度の上げるための方法、*PIK3CA* 変異陽性乳癌に対する臨床研究の現状、本研究結果の臨床応用へと発展させるための方策などに関して質疑応答が行われ、いずれも的確な回答がなされた。

本研究論文は、転移性乳癌において LB により *PIK3CA* 変異がたとえ腫瘍組織で変異陰性の場合でも同定可能であり、腫瘍組織と LB を用いた *PIK3CA* 変異の複合的な解析が乳癌患者の治療において臨床的に有用な情報を提供できることを示している。

以上より、学位論文として十分に価値があると判定した。