

# 論 文 内 容 要 旨

Serial profiling of circulating tumor DNA for  
optimization of anti-VEGF chemotherapy in  
metastatic colorectal cancer patients

(抗 VEGF 抗体薬を併用した大腸癌化学療法におけ  
る循環腫瘍 DNA の連続的な分析)

International Journal of Cancer, 2018, in press.

主指導教員：茶山 一彰 教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・代謝内科学)

副指導教員：田中 信治 教授

(広島大学病院 内視鏡医学)

副指導教員：伊藤 公訓 准教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・代謝内科学)

山内 理海

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 【背景】

昨今、がんの遺伝子変異情報を低侵襲かつ反復的に得るため、末梢血などの体液から腫瘍由来の DNA や miRNA を採取し、解析する方法（リキッドバイオプシー）の応用研究が活発に行われている。大腸がんの化学療法においては、標準治療の一つである抗 EGFR 抗体治療の耐性獲得期に、血中の循環腫瘍 DNA（circulating tumor DNA; ctDNA）から抗がん剤耐性のバイオマーカーである *RAS* 変異を検出する研究が行われている。一方、血管新生阻害剤（ベバシズマブ）を含む大腸がん化学療法は、一次治療のもう一つの柱として広く受け入れられているものの、治療効果を選別するバイオマーカーがないこと、治療前後の遺伝子変異の変化に関する情報が不足していることなどが、治療戦略の最適化の妨げとなっている。

## 【目的】

ベバシズマブを含む大腸がん化学療法を受ける患者において、末梢血液中から検出される ctDNA の内容と動態を追跡し、バイオマーカーとしての意義を検証する。

## 【対象と方法】

ベバシズマブ、5-FU、オキサリプラチンを含む標準1次化学療法を6か月以上継続した切除不能大腸がん21症例において、治療前、奏効期、耐性獲得期の3ポイントから合計61検体の血漿を前向きに採取・保存した。奏効については、CTで最も良好な腫瘍縮小が得られた時点と定義した。抽出したDNAから、癌関連90遺伝子を搭載したがんパネルにてライブラリーを作成し、次世代シーケンサーにて deep sequence を行い、ctDNAを同定した（読取深度中央値1500）。18例では、腫瘍組織由来のDNAも同時にシーケンスし、検出した変異が腫瘍由来かどうか確認した。

## 【結果】

全症例において、1-6個の変異をコードする ctDNA を確認した。治療前の変異アレル頻度（Mutant allele frequency; MAF）は1-89%と広範囲に分布していた。MAFの中央値は治療前13.2%、奏効期1.85%、耐性期9.17%と変化し、治療効果による有意な減少と、耐性獲得による有意な増加が観察された（ $p < 0.001$ ）。RECISTに準拠しCTの測定可能病変から計算した腫瘍量とMAFの間には弱い相関が認められたが（ $R = 0.57$ ）、CEAおよびCA19-9とMAFの間には全く相関が認められなかった（ $R = 0.0082, 0.0036$ ）。奏効期におけるMAFと予後との関連について検討したところ、2%未満までMAF低下した群では、2%以上であった群に比べて有意に予後良好であり（16.6 vs. 32.5月、 $p < 0.001$ ）、多変量解析を加えても有意な予測因子であったことから（ $p = 0.005$ 、ハザード比22）、耐性期におけるMAFの値はベバシズマブを含む大腸がん化学療法の有用なバイオマーカーと考えられた。また2例においては、耐性獲得期の血漿中に、MAF1%前後の新規変異（*CREBBP*, *FBXW7*）をコードする ctDNA の出現を認めた。これらはいずれもがん抑制遺伝子であり、その変異による機能減弱は、抗 VEGF 治療で惹起された腫瘍の低酸素状態への抵抗性を反映していると考えられた。すなわち、治療後期の新規 ctDNA の出現は、がん転移巣の多様なクローン集団の中で、血管新生阻害治療に対する耐性クローンが増加していることが示唆できた。

## 【結論】

大腸癌に対するベバシズマブを含む化学療法の奏効により ctDNA は減少し、その程度は生存期間と関連している。耐性期の新規 ctDNA 出現は、血管新生阻害剤に対する耐性獲得の機序解明の一助となる。がん化学療法中の ctDNA に関する知見の今後の集積は、プレシジョンメディシンの発展に有用と考える。