

論文内容要旨

Identification and monitoring of mutations in circulating cell-free tumor DNA in hepatocellular carcinoma treated with lenvatinib

(レンバチニブ 治療された肝細胞癌における循環腫瘍 DNA の変異の同定とモニタリング)

Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.
2021 Jun 26;40(1):215.

主指導教員：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 教授
(広島大学病院 総合診療医学)

副指導教員：相方 浩 准教授
(医系科学研究科 消化器・代謝内科学)

藤井 康智
(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】

レンバチニブ (LEN) は, VEGF 受容体 1-3, FGF 受容体 1-4, PDGF 受容体 α , RET および KIT を標的とする経口マルチキナーゼ阻害剤であり, 肝細胞癌 (HCC) において, ソラフェニブとの非劣性が示され (REFLECT ; NCT01761266), 一次治療の選択肢の一つとなっている. さらに最近では, 一次治療としてアテゾリズマブ + ベバシズマブ併用療法, 二次治療以降にラムシルマブやカボザンチニブが使用可能となり, 治療選択肢が増えてきている. そのため, がんゲノム医療に注目が集まっており, PI3K/MTOR 経路の変異とソラフェニブへの抵抗性との関連, WNT 経路の変異と免疫チェックポイント阻害剤への抵抗性との関連が報告されている. しかし, HCC において生検を繰り返すことは, 合併症や放射線診断の高い特異性, 腫瘍の不均一性を評価する上での単一組織生検の限界から, 適応が制限される. がんの診断およびモニタリングのための非侵襲的な検査として期待が高まっているのが, リキッドバイオプシーと呼ばれる循環腫瘍 DNA (ctDNA) の利用である. 既に肺癌においては, ctDNA による変異の検出が治療選択へ応用されており, また変異アレル頻度 (VAF) の変化が抗腫瘍効果に直結し, 臨床的意義を持つことも示唆されている.

【目的】

本研究の目的は以下の通りである.

- 1) LEN 治療を受けた切除不能 HCC において, 次世代シーケンス (NGS) を用いて ctDNA プロファイリングが可能か評価する.
- 2) LEN 治療中の縦断的なモニタリングにおける ctDNA の有用性を明らかにする.

【対象と方法】

2018 年 4 月~2019 年 10 月に当院において LEN 治療を受けた切除不能, 進行 HCC 患者 24 例を対象に, Guardant360 v2.11 (74 遺伝子を対象としたがん遺伝子パネル)による ctDNA の解析を行い, 遺伝子変異の有無と LEN の抗腫瘍効果との関係について検討を行った. Child-Pugh A, パフォーマンスステータススコア 1 以下, TNM ステージ 3 以上, 初期 4 週間の Relative dose intensity 70%以上を症例の選択基準とした. ctDNA は, 治療開始時および 4 週間後の時点で評価を行い, 6 週間後および以降 2 ヶ月毎に, 画像検査による効果判定 (mRECIST) を行った. Gene Ontology と Reactome の遺伝子セットを用いて, パネルに含まれる遺伝子を HCC で異常を来すことの多い主要な経路 (PI3K/MTOR 経路, WNT 経路, クロマチンリモデリング, 細胞周期制御, テロメアメンテナンス) に分類した. 各症例の体細胞変異遺伝子の VAF の平均値を VAFmean と定義した. 統計解析は, JMP Pro 14.0.0 を用いて行った. グループ間の差は, 連続変数またはカテゴリー変数について, それぞれ Mann-Whitney U 検定または Fisher's exact 検定, ベースラインと 4 週間後の VAFmean の比較は, Paired t-test で評価した. 無増悪生存期間 (PFS) と全生存期間 (OS) は Kaplan-Meier 法で推定し, サブグループ間の差は log-rank 検定で評価した.

【結果】

1) ctDNA のゲノムプロファイリング

24 例中 23 例において、合計 131 個の SNV, 17 個の indel, 23 個の CNV が、それぞれ 28 個, 6 個, 12 個の遺伝子に体細胞変異として検出された。治療開始時、頻度が高かった上位 5 つの体細胞変異は、TP53 (54%) CTNNB1 (42%) TERT (42%) ATM (25%) ARID1A (13%) であった。

2) LEN 治療 4 週間後の VAFmean 動態

初回効果判定時 PR/CR の症例では、LEN 治療 4 週間の時点での VAFmean が有意に減少した ($p=0.02$)。一方、PD/SD の症例では有意な変化はみられなかった ($p=0.78$)。4 週間で VAFmean が減少した群では、増加した群と比較して PFS が有意に延長した ($p<0.001$) が、OS には有意な差は認めなかった ($p=0.99$)。

3) 治療開始時における特定の遺伝子変異の有無による LEN への反応

HCC で異常を来すことの多い主要な経路の変異の有無において、いずれのグループにおいても、PFS において有意な差はみられなかった ($p=0.92, 0.65, 0.09, 0.60, 0.82$)。上位 3 遺伝子である TP53, CTNNB1, TERT の変異の有無における解析でも、同様に有意な差はみられなかった ($p=0.09, 0.66, 0.82$)。

4) AFP と ctDNA の比較

AFP 陽性 (ベースラインで 20ng/mL 以上) の HCC は 11/24 例 (45.8%) のみであった。LEN 治療 4 週間での ctDNA VAFmean の変化は、感度 1.0, 特異度 0.67 で初回効果判定における PR/CR を予測していたのに対し、AFP の変化は感度 0.93, 特異度 0.1 であった。また、4 週間で AFP が減少した群と増加した群の PFS および OS には有意な差はなかった (それぞれ $p=0.30, p=0.16$)。

5) 腫瘍サイズとの相関関係

腫瘍の大きさは、RECIST 1.1 で定義されたすべての標的病変の直径の合計に基づいて評価した。治療開始時における VAFmean と腫瘍サイズには、Spearman の相関にて正の関係がみられたが ($r=0.41, p=0.05$)、LEN 治療後では見られなかった ($r=0.31, p=0.14$)。腫瘍サイズの変化と VAFmean の変化にも、正の相関関係が認められた ($r=0.56, p=0.004$)。一方、いずれにおいても AFP と腫瘍サイズには相関関係は認められなかった。

6) 特定の変異タイプ内の VAFmean-change の分析

各変異をミスセンス変異, ナンセンス変異, フレームシフト変異, インフレーム変異, プロモーター領域の変異, スプライスサイト変異に分類した。特定の変異タイプ内の VAFmean の変化の分析で、5 症例において他の主要なクローンとは変化の方向が異なるマイナーな集団が存在していた。その集団は全て一遺伝子の変異に依存していた。

【考察】

今回の研究では、切除不能 HCC に対する LEN 治療開始後の VAFmean の低下が、PFS の延長と関連することを示した。一方、OS との関連性は認められなかったが、後治療の影響によるものと考えられた。LEN 開始時における PI3K/MTOR 経路や WNT 経路の変異の有無で PFS に有意差は認められなかったことは、ソラフェニブや免疫療法との使い分けを支持する結果と考えられる。

固形腫瘍は、さまざまな変異を持つ多くのサブクローンから構成されており、一連の遺伝子にわたる VAFmean は、治療に対する反応をより正確に反映できると考えた。特定の変異タイプ内の VAFmean の変化の方向の違いは、LEN への反応性の不平等さを反映していると考えられた。腫瘍サイズや AFP との比較から、VAFmean 値が腫瘍量を反映する非侵襲的な代用マーカーになりうると考えられた。ベースライン時と 4 週間後の腫瘍径と VAFmean の相関の違いは、腫瘍径だけでは評価できない抗腫瘍効果を反映している可能性があり、mRECIST の臨床的有用性を裏付ける結果であった。LEN の耐性に関係する遺伝子に関しては、より長期間の経時的なクローナリティの評価が必要であると考えられる。

【結論】

今回の結果から、ctDNA プロファイリングは、i) 非侵襲的であること、ii) VAF の経時的変化のモニタリングが容易であること、iii) ctDNA 動態が従来の腫瘍マーカーよりも付加的な情報を提供する可能性があること、以上の利点があり臨床的ながんゲノミクスに適していることがわかった。