

論文の内容の要旨

膠芽腫における *PIK3CA* 遺伝子変異の臨床的意義についての考察

田中 將太

近年急速に発達した遺伝子解析技術により膠芽腫をはじめとする神経膠腫の網羅的ゲノム・エピゲノム解析が進み、それらの分子遺伝学的知見が大いに深まった結果、従来の組織診断に加え、*IDH1/2* 変異や染色体 1p19q 共欠失といった遺伝子異常の決定が、神経膠腫を診断・治療するうえで非常に重要であるとの認識が高まった。また、癌において分子標的薬等の化学療法の効果予測に有用な遺伝子異常が数多く知られ、膠芽腫においては標準治療であるテモゾロミド化学療法の効果予測に *MGMT* プロモーターメチル化が有用であることが明らかになり、実際に臨床で活用されている。このようにある遺伝子型と、それに密接に関連する表現型、すなわち臨床的特徴が一つひとつ明らかになっていけば、治療の最適化がなされ、不良である膠芽腫の予後も改善されていくものと期待される。

ホスファチジルイノシトール-3 (PI3) キナーゼ経路は細胞の増殖や遊走に関わる重要な経路であり、PI3 キナーゼを構成する触媒サブユニット p110 α をコードする *PIK3CA* 遺伝子の活性化型変異などにより、癌において恒常的に亢進していることが知られる。膠芽腫においても *PIK3CA* 変異が 6-15%に見られるが、その臨床的意義については未だ殆ど分かっていない。そこで本研究では、*PIK3CA* 変異を有する初発膠芽腫の臨床上的特徴について、複数の独立した患者シリーズで後方視的に検討した。具体的には、野生型に比し変異型の症例に特徴的な患者像や腫瘍像の探索を行い、予後の群間比較を行った。

まず、2009年12月から2012年6月にマサチューセッツ総合病院 (Massachusetts General Hospital, MGH) (米国ボストン) において組織診断および SNaPshot アッセイを含めた分子診断を受けた成人膠芽腫患者、連続 184 症例のうち、KPS スコアが 60 以上で放射線療法およびテモゾロミド併用化学療法を受けた初発膠芽腫、157 症例を研究対象とした。電子カルテから臨床情報を抽出した。また、SNaPshot アッセイ (マルチプレックス PCR を用いた遺伝子パネル検査) による 15 癌関連遺伝子 (*AKT1*, *APC*, *BRAF*, *CTNNB1*, *EGFR*, *HER2*, *IDH1*, *KIT*, *KRAS*, *MEK1*, *NOTCH1*, *NRAS*, *PIK3CA*, *PTEN*, *TP53*) のホットスポット変異、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションによる *EGFR*, *c-MET*, *PDGFRA* の遺伝子増幅、メチル化特異的 PCR による *MGMT* プロモーターメチル化のデータを、分子診断として抽出した。さらに画像評価においては、腫瘍部位などとともに、多発、あるいは神経膠腫症様、あるいは髄液播種を呈する症例を「広域播種性病変」と定義し、発症形態の評価を行った。

20.9 か月 (中央値) の追跡期間で、無増悪期間 (progression-free survival, PFS) は 11.9 か月 (中央値)、全生存期間 (overall survival, OS) は 24.0 か月 (中央値) であった。既知の予後規定因子である年齢、KPS スコア、全摘出、*IDH1* 変異、*MGMT* プロモーターメチル化に関

しては、ログランク検定にて総じて PFS・OS との相関が見られた。*PIK3CA* 変異は 13 例 (8.3%) に見られ、予後解析にて変異型は野生型に比べ PFS が有意に短かった (中央値 6.9 か月 vs. 12.4 か月、 $p=0.03$ (ログランク検定)) (図 1)。なお、OS に関しては有意差が見られなかった (中央値 21.2 か月 vs. 24.2 か月、 $p=0.19$ (同検定)) (図 1)。単変量・多変量 Cox 比例ハザードモデルを用いて予後因子の解析を行うと、年齢・*IDH1* 変異・*MGMT* プロモーターメチル化といった既知の因子と並んで *PIK3CA* 変異が、PFS・OS とともに有意な予後因子として抽出された (PFS : $p=0.007$, HR 3.06 [95%CI 1.39-6.17]、OS : $p=0.04$, HR 2.35 [95%CI 1.03-4.87]) (表 1)。

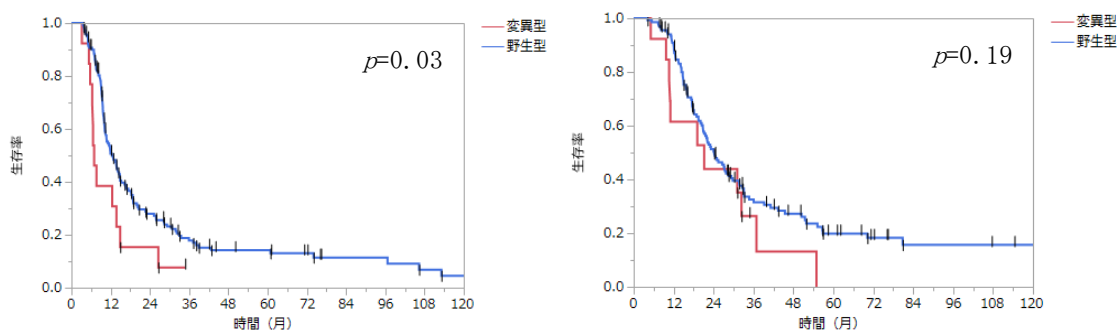


図 1 MGH 症例における *PIK3CA* 変異別の生存曲線 (左 : PFS、右 : OS)

表 1 単変量・多変量 Cox 比例ハザードモデルを用いた予後因子の解析 (左 : PFS、右 OS)

PFS	単変量解析		多変量解析	
	p値	ハザード比 (95%信頼区間)	p値	ハザード比 (95%信頼区間)
患者				
年齢 (連続変数)	0.0004*	1.03 (1.01-1.04) [§]	0.004*	1.03 (1.01-1.05) [§]
男性	0.63	1.09 (0.77-1.56)		
KPSスコア (連続変数)	0.1	0.98 (0.97-1.00) [§]		
発症発症	0.009*	0.60 (0.40-0.87)	0.01*	0.58 (0.37-0.89)
腫瘍				
前頭葉	0.12	0.75 (0.51-1.08)		
左側	0.96	0.99 (0.70-1.41)		
機能領域	0.9	0.97 (0.65-1.43)		
広域播種性病変	0.003*	2.15 (1.31-3.38)		
治療				
生検	0.16	1.46 (0.85-2.40)		
全摘出	0.02*	0.65 (0.45-0.92)	0.1	0.71 (0.47-1.07)
遺伝子異常				
<i>PIK3CA</i> 変異	0.051	1.91 (1.00-3.33)	0.007*	3.06 (1.39-6.17)
<i>IDH1</i> 変異	<0.0001*	0.14 (0.04-0.33)	0.003*	0.10 (0.01-0.51)
<i>MGMT</i> プロモーターメチル化	<0.0001*	0.38 (0.25-0.57)	<0.0001*	0.31 (0.20-0.49)
<i>EGFR</i> 遺伝子増幅	0.48	1.14 (0.79-1.64)		
[§] 単位ハザード比。* 有意水準: $p < 0.05$				
OS	単変量解析		多変量解析	
	p値	ハザード比 (95%信頼区間)	p値	ハザード比 (95%信頼区間)
患者				
年齢 (高年齢)	0.0004*	1.03 (1.01-1.05) [§]	0.002*	1.03 (1.01-1.05) [§]
男性	0.97	0.99 (0.68-1.47)		
KPSスコア (高KPSスコア)	0.047*	0.98 (0.96-1.00) [§]	0.22	0.99 (0.96-1.01) [§]
発症発症	0.04*	0.65 (0.42-0.98)		
腫瘍				
前頭葉	0.41	0.85 (0.56-1.26)		
左側	0.9	1.03 (0.70-1.51)		
機能領域	0.94	0.98 (0.62-1.51)		
広域播種性病変	0.005*	2.20 (1.29-3.57)		
治療				
生検	0.25	1.41 (0.77-2.41)		
全摘出	0.11	2.20 (1.29-3.57)		
遺伝子異常				
<i>PIK3CA</i> 変異	0.22	1.52 (0.76-2.71)	0.04*	2.35 (1.03-4.87)
<i>IDH1</i> 変異	<0.0001*	0.09 (0.02-0.30)	0.01*	0.15 (0.01-0.72)
<i>MGMT</i> プロモーターメチル化	<0.0001*	0.32 (0.20-0.50)	<0.0001*	0.27 (0.16-0.43)
<i>EGFR</i> 遺伝子増幅	0.67	1.09 (0.73-1.63)		
[§] 単位ハザード比。* 有意水準: $p < 0.05$				

PIK3CA 変異を有する初発膠芽腫の特徴として、若年発症で (49.4 歳 vs. 58.3 歳、 $p=0.02$)、機能部位を侵すことが多く (53.9% vs. 25.7%、 $p=0.049$)、広域播種性病変での発症が多い (46.2% vs. 11.1%、 $p=0.004$) ことが挙げられた。広域播種性病変の典型例を図 2 に示す。なお、その他の遺伝子異常で広域播種性病変での発症と相関するものはなかった。また MGH 症例では、広域播種性病変で発症した初発膠芽腫の 27.3%に *PIK3CA* 変異を認めた。

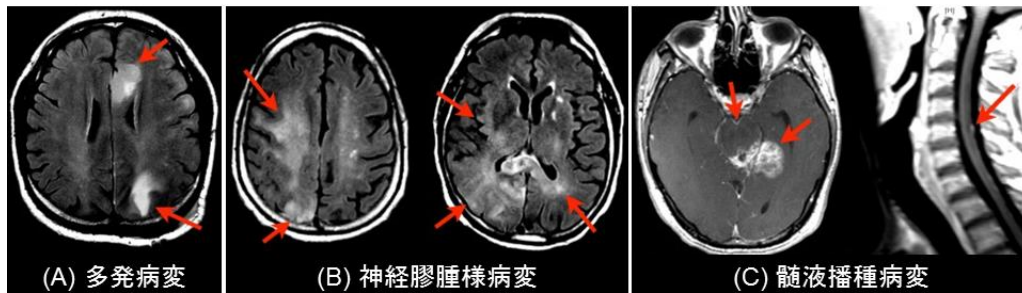


図 2 広域播種性病変で発症した *PIK3CA* 変異陽性膠芽腫の典型例

以上より、*PIK3CA* 変異を有する初発膠芽腫は若年に発症しやすく、また発症時点で既に広範に腫瘍が進展していることが多く、再発までの期間が短く予後不良であることが明らかになった。

次に、MGH 症例の解析で得られた上記の知見を検証すべく、大規模公共データベースである The Cancer Genome Atlas (TCGA) プロジェクトの膠芽腫症例で、後方視的研究を行った。初発膠芽腫 291 例に関する臨床情報および遺伝子情報を、cBioPortal (<http://www.cbioportal.org>) よりダウンロードした。*PIK3CA* 変異は 26 例 (8.9%) に見られ、野生型に比べ変異型では PFS が有意に短かった (中央値 6.1 か月 vs. 9 か月、 $p=0.008$ (ログランク検定)) (図 3)。OS に関しては有意ではなかった。

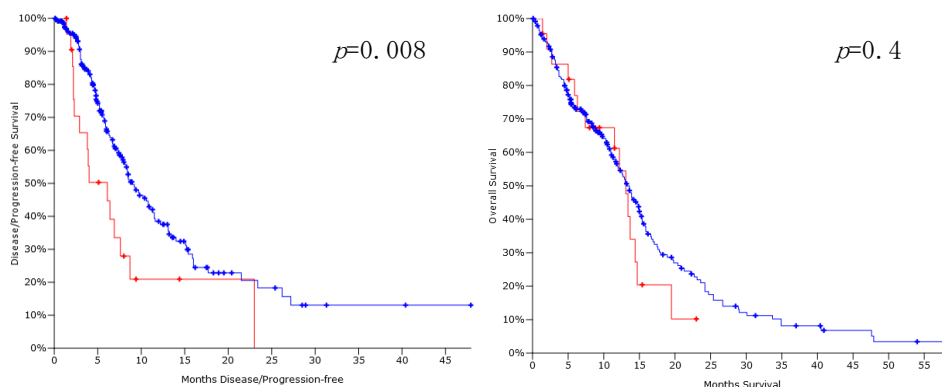


図 3 TCGA 膠芽腫症例における *PIK3CA* 変異別の生存曲線 (左 : PFS、右 : OS)

なお、PI3 キナーゼを構成する制御サブユニット p85 α をコードする *PIK3R1* 遺伝子の機能喪失型変異でも、PI3 キナーゼ経路の亢進をもたらされることが知られるが、TCGA 症例では *PIK3R1* 変異と予後との有意な相関は見られなかった。*PIK3CA*・*PIK3R1* 変異やその他の既知の予後因子を含めて多変量解析を行うと、PFS に相関する因子として *PIK3CA* 変異のみが抽出された ($p=0.01$, HR 2.15 [95%CI 1.22-3.53])。

さらに、2016 年 1 月から 2017 年 12 月に当院で手術治療を受けた初発膠芽腫症例を対象に、後方視的に検証を行った。低悪性度神経膠腫から進展した続発性膠芽腫は除外し、MGH 症例と同様に放射線化学療法を施行された症例のみを対象とし、遺伝子解析に供する腫瘍検体が採取できた 20 例を研究対象とした。*IDH1/2* 変異と *MGMT* プロモーターメチル化は既に解析済みであり、サンガーシークエンスにて *PIK3CA* 変異を検索した。*PIK3CA* 遺伝子のうち、ホットスポット変異のあるエクソン 1, 4, 5, 7, 9, 20 を調べた。2 例 (10.0%) に *PIK3CA* 変異が見られ、16 歳・35 歳とともに若年で発症しており、野生型に比べ変異型ではログランク検定にて PFS が有意に短く (中央値 5.1 か月 vs. 13.8 か月、 $p=0.03$)、多変量解析でも有意であった。

以上、3 つの独立した患者シリーズでの解析から、初発膠芽腫において *PIK3CA* 変異は 10%弱に見られ、野生型に比し変異型は若年で発症する傾向があるが、発症時点で既に広範に腫瘍進展している場合が多く、早期に再発し予後不良であることが明らかになった。

Lee らによる膠芽腫の全エクソーム解析研究において、*PIK3CA* 変異を有する症例が多発膠芽腫に多く、予後不良であることが報告された。本研究では多発に加え、神経膠腫症様、髄液播種までも含めて解析・報告しているという違いはあるが、この全エクソーム解析による報告は基本的に本研究で得られた知見を裏付けするエビデンスとも捉えられる。ただし、*PIK3CA* 変異と広範な腫瘍進展による発症、不良な予後との関連については、あくまで推論であり、基礎実験により実証されたものではないので、機能解析が重要となろう。

本研究の限界としてもう一つ挙げるべきは、*PIK3CA* 変異と同様 PI3 キナーゼ経路の亢進を来す *PIK3R1* 変異の解析が不十分であることである。解析当時の SNaPshot アッセイに *PIK3R1* が含まれなかったため、MGH 症例で *PIK3CA* 変異と *PIK3R1* 変異を包括的に検証することは難しく、今後の網羅的解析が望まれる。

一般的に膠芽腫に対する臨床試験では、多発・播種を示す症例は除外されることが多く、本研究の知見から推察する限り、*PIK3CA* 変異を有する症例が選択的に排除されている可能性がある。PI3 キナーゼ阻害薬の効果は *PIK3CA* 変異を有する膠芽腫で高いことが予想されるだけに、過去に臨床試験で投与された PI3 キナーゼ阻害薬が十分な効果を示せなかった理由の一つかもしれない。臨床試験の企画やデータ解釈に際し、母集団の分子プロファイルに充分配慮する必要があるということを本研究は示唆しており、意義深い。