

大腸がんにおける BRAF 変異検査：最新の動向

BRAF mutation testing in colorectal cancer

みや した ゆう み しま さ おり
宮 下 優：三 島 沙 織
Yu MIYASHITA Saori MISHIMA

はじめに

近年、がんの分子生物学の進歩、発展により、大腸がん診療では腫瘍組織・腫瘍細胞を遺伝子レベルで解析することで、遺伝子変異に即した治療薬の選択が可能になりつつある。BRAF 変異陽性大腸がんは、予後不良であることが知られており、「大腸がん診療における遺伝子関連検査等のガイダンス第5版」では、切除不能症例だけでなく、切除可能症例も再発リスクに応じた治療選択を目的として、BRAF V600E 変異検査を行うことを推奨している¹⁾。また、大腸がんにおけるリンチ症候群の補助診断としても有用であり、リンチ症候群の診断の補助を目的とした BRAF V600E 変異検査の実施も推奨され、大腸がんにおける BRAF 変異検査はこれら3つの目的で行われる。

BRAF 変異検出検査としては、RAS 変異および BRAF V600E 変異を同時に検出する MEBGEN RASKET-B キット、また、therascreen BRAF V600E 変異検出キットが本邦において保険償還されている。別の検査として、BRAF 変異タンパク (VE1) に対する免疫組織化学染色検査が、2023 年 1 月に保険適用となった。本稿では、大腸がんにおける BRAF 変異の臨床的意義や治療、変異検出検査などについて解説する。

I. 大腸がんの個別化医療

本邦において、2021 年の大腸がんによる年間死亡数は、男性 28,080 人、女性 24,338 人であり、悪性新生物の中では、男性では肺がんに次いで多く、

女性では最も多い²⁾。

切除不能な進行・再発大腸がんの治療では、全身化学療法が標準治療と位置付けられ、従来の殺細胞性抗がん薬 (フッ化ピリミジン系抗腫瘍薬、イリノテカン、オキサリプラチン) に加え、血管新生阻害薬 (ベバシズマブ、ラムシルマブ、アフリベルセプト) や抗 EGFR 抗体薬 (セツキシマブ、パニツムマブ) などの分子標的治療薬を用いた一次治療や二次治療により飛躍的に予後が改善してきた。さらに、上記の治療に不応または不耐となった後方治療において、レゴラフェニブ、トリフルリジン・チピラシル塩酸塩 (FTD/TPI) が薬事承認されている。特定の遺伝子異常に対する分子標的治療薬も開発が進められており、高頻度マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability-high; MSI-High) を有する大腸がんに対する免疫チェックポイント阻害薬 (ニボルマブ、ペムブロリズマブ、イピリムマブ)、BRAF V600E 遺伝子変異陽性に対する BRAF 阻害薬 (エンコラフェニブ)、MEK 阻害薬 (ビニメチニブ)、NTRK 融合遺伝子陽性に対するエヌトレクチニブ、ラロトレクチニブ、HER2 陽性に対するトラスツズマブ、ペルツズマブが薬事承認されている。適切な治療選択のため、「大腸癌治療ガイドライン 医師用 2022 年版」および「大腸がん診療における遺伝子関連検査等のガイダンス 第5版」では一次治療開始前に、RAS/BRAF 遺伝子変異検査を行うことが推奨されている^{1,3)}。

II. 大腸がんにおける BRAF V600E 変異

BRAF タンパク質は、RAS-RAF-MAPK 経路に属す

るセリン・スレオニンキナーゼである RAF の一つのサブタイプである。EGFR などの受容体型チロシンキナーゼにより活性化された RAS タンパク質と結合し、下流の MEK-ERK 経路を活性化し、細胞増殖や生存に関与する⁴⁾。*BRAF* 遺伝子変異により変異型 *BRAF* タンパク質が存在すると、上流の RAS タンパク質からの刺激の有無にかかわらず恒常的な活性化状態となり、下流に増殖シグナルを送り続け、発がんやがんの増殖を引き起こすとされている⁵⁾。*BRAF* の活性化型変異の大部分が、エクソン 15 領域、コドン 600 のバリンがグルタミン酸となる V600E 変異である。

BRAF 変異陽性大腸がんは、大腸がんの 5-10% 程度にみられ、予後不良であることが知られている⁶⁾。また女性、60 歳以上、右側結腸原発、低分化型腺がん、粘液成分あり、マイクロサテライト不安定性を有する大腸がんにおいて、*BRAF* V600E 変異の頻度が高いことが報告されている⁷⁾。切除不能な進行・再発大腸がんに対する第Ⅲ相試験である TRIBE 試験では、FOLFOXIRI (フルオロウラシル + オキサリプラチン + イリノテカン) + ベバシズマブ療法と FOLFIRI (フルオロウラシル + イリノテカン) + ベバシズマブ療法が比較され、*BRAF* V600E 変異陽性症例で特に FOLFOXIRI + ベバシズマブ療法による生存延長効果が大きい傾向にあったと報告された⁸⁾。しかし、その後実施された TRIBE 試験を含めた 5 つの比較試験の統合解析において、FOLFOXIRI + ベバシズマブ療法は doublet レジメンである FOLFOX (フルオロウラシル + オキサリプラチン) + ベバシズマブ療法または FOLFIRI + ベバシズマブ療法と比較して、優位な生存期間延長効果を示せなかった⁹⁾。*BRAF* V600E 変異陽性に対する FOLFOXIRI + ベバシズマブ療法は一次治療における治療選択肢の 1 つと考えられ、「大腸癌治療ガイドライン医師用 2022 年版」では doublet レジメンと同じ推奨度で記載されている³⁾。また、国際共同第Ⅲ相試験である BEACON CRC 試験が実施され、*BRAF* 阻害薬を用いた治療の有効性・安全性が検証された。同試験は、化学療法歴のある *BRAF* V600E 変異陽性大腸がんを対象として、エンコラフェニブ + ビニメチニブ + セツキシマブの 3 剤療法およびエンコラフェニブ + セツキシマブの 2 剤療法と、対照治療群の FOLFIRI + セツキシマブまたはイリノテカン + セツキシマブ療

法とが比較された。3 剤、2 剤療法群はともに対照治療群と比べ全生存期間、無増悪生存期間、客観的奏効率の改善を認めた¹⁰⁾。同試験結果に基づき、本邦では 2020 年 11 月に「がん化学療法後に増悪した *BRAF* 遺伝子変異を有する治療切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌」を効果・効能として、エンコラフェニブおよびビニメチニブが薬事承認され、「大腸癌治療ガイドライン医師用 2022 年版」では二次治療以降の新たな標準治療として推奨されている³⁾。

さらに、一次治療における *BRAF* 阻害薬を用いた検討として ANCHOR CRC 試験の結果が報告された。同試験は、*BRAF* V600E 変異陽性切除不能進行・再発大腸がんを対象に、一次治療としてエンコラフェニブ + ビニメチニブ + セツキシマブの 3 剤療法の有効性、安全性を検討した単群第Ⅱ相試験である。主要評価項目の客観的奏効率は 47.8% (95% 信頼区間 37.3-58.5%) と、試験前に計画した主要評価達成基準を満たし、良好な抗腫瘍効果を示した¹¹⁾。現在 *BRAF* V600E 変異陽性転移性大腸がんを対象に、一次治療としてエンコラフェニブ + セツキシマブ ± 化学療法と化学療法とを比較する多施設共同無作為化非盲検第Ⅲ相試験である BREAKWATER 試験が進行中であり、その結果が待たれる。

切除可能大腸がんにおいても *BRAF* V600E 変異は予後不良因子であり、再発リスク因子となることが報告されている¹²⁾。術後補助化学療法として、フルオロウラシル + ロイコボリン療法と FOLFOX 療法を比較した第Ⅲ相試験である MOSAIC 試験において、全生存期間のサブグループ解析で *BRAF* V600E 変異陽性例ではハザード比が 0.66 (95% 信頼区間 0.31-1.42) であり、*BRAF* 野生型 (ハザード比 0.93, 95% 信頼区間 0.73-1.2) と比べ有意差はないものの、*BRAF* V600E 変異陽性例ではオキサリプラチンの上乘せ効果が高い可能性が示唆されている¹³⁾。また、Stage IV 症例においても、切除可能 *BRAF* V600E 変異陽性大腸がん肝転移は、*BRAF* 野生型と比べ切除後の早期再発率や死亡率が高く、生存率、再発率のリスク因子になるという報告がある¹⁴⁾。周術期化学療法については、現在本邦において、*BRAF* V600E 変異陽性大腸がん患者を対象とした切除可能大腸がん遠隔転移に対するエンコラフェニブ + ビニメチニブ + セツキシマブ併用療法の有効性、および安全性を評価する多施設共同第Ⅱ相試験 (NEXUS 試

験)が進行中である。

以上のように、*BRAF* V600E 変異の有無を確認することで、化学療法の治療効果や予後を考慮した治療選択を行う事が可能となる。したがって、切除不能、切除可能症例いずれにおいても *BRAF* V600E 変異の有無を検査することが推奨される。

また、*BRAF* V600E 変異検査は、大腸がんにおけるリンチ症候群の診断の補助にも有用であることが知られている。リンチ症候群は、主にミスマッチ修復 (mismatch repair: MMR) 遺伝子の生殖細胞系列変異を原因とする常染色体優性遺伝性疾患であり、ミスマッチ修復機能欠損によりマイクロサテライト不安定性 (MSI) が生じることで、腫瘍抑制、細胞増殖、DNA 修復やアポトーシス等に関する遺伝子が MSI によりフレームシフトを起こし、がん化に繋がると考えられている¹⁵⁾。リンチ症候群と考えられる症例の大部分は、MSI-High を示しても *BRAF* V600E は殆ど検出されないことが報告されている¹⁶⁾。したがって、*BRAF* V600E 変異陽性であれば、遺伝学的検査による確定診断を行わなくてもリンチ症候群をほぼ否定できることから、MSI-High または MLH1 蛋白発現消失の場合には、遺伝学的検査に進む前に *BRAF* V600E 変異検査を実施することが選択肢として「遺伝性大腸癌診療ガイドライン」においても示されており¹⁷⁾、2018年8月より大腸がんにおけるリンチ症候群の診断の補助を目的として *BRAF* V600E 変異検査が保険適用されている。

Ⅲ. *BRAF* V600E変異検査法

本邦では、*RAS* 変異および *BRAF* V600E 変異を同時に検出する体外診断用医薬品として、腫瘍組織を用いた MEBGEN RASKET-B キットが2017年12月に製造販売承認され、2018年8月より「切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌における治療選択の補助」および「大腸癌におけるリンチ症候群の診断の補助」として保険適用となった。2020年4月には保険適用が「治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌における治療選択の補助又は結腸癌における術後補助化学療法の選択の補助」となり、術後補助化学療法の選択補助としても同検査が使用可能となった。また、therascreen *BRAF* V600E 変異検査キット RGQ も *BRAF* 阻害薬の承認に合わせて新たに薬事

承認されており、本邦では *BRAF* V600E 遺伝子検査として MEBGEN RASKET-B キット、therascreen *BRAF* V600E 変異検出キットが保険償還されている。

別の *BRAF* V600E 検査として、*BRAF* 変異タンパク (VE1) に対する免疫組織化学染色検査がある。8研究 1,021 例の大腸癌コホートでのメタアナリシスでは、免疫組織化学染色法と *BRAF* V600E 変異との一致率は 0.94 (95% CI: 0.87-0.98)、感度 0.94 (95% CI: 0.91-0.96)、特異度 0.96 (95% CI: 0.95-0.98) と報告されている¹⁸⁾。免疫組織化学染色法は使用する抗体や染色条件等により染色の程度が変わりうることから、厳密に標準化された染色法、判定方法を用いる必要がある。*BRAF* 変異タンパク検出キット「ベンタナ OptiView *BRAF* VE600E (VE1)」は「大腸癌におけるリンチ症候群の診断の補助」および「大腸癌における化学療法の選択の補助」を使用目的として製造販売承認を取得し、2023年1月に保険適用となった。*BRAF* 変異タンパク検出キットを用いた免疫組織化学染色を図1に示した。*BRAF* 変異陰性 (図1左下)、*BRAF* 変異陽性 (図1右下) と免疫組織化学染色による判定が可能である。

近年、血漿中の DNA を解析する血液検査法が注目されている。組織採取が困難な場合でも検査対象とすることができ、繰り返し検査を容易とするものである。このことを生検による組織検体 (バイオプシー) に対比して「リキッドバイオプシー」と称される。血中には、血球等の細胞死によって遊離・循環する DNA 断片 (cfDNA) が存在し、その中には、がん細胞の壊死またはアポトーシスによって放出される血中循環腫瘍由来 DNA (ctDNA) が含まれ、がん患者では ctDNA の血中循環が一定の割合で生じている。本邦においては、血液検体を用いた固形がんの包括的ゲノムプロファイル (Comprehensive Genomic Profiling; CGP) 検査として、「FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル」、「Guardant 360 CDx がん遺伝子パネル」が製造販売承認を取得しており、がんゲノムプロファイルの取得を目的とした解析対象遺伝子に *BRAF* 遺伝子が含まれている。しかし、現時点ではリキッドバイオプシーによる *BRAF* V600E 変異検査法で、コンパニオン診断機能を有する医療機器または体外診断用医薬品として製造販売承認されているものはなく、今後の開発が期待される。

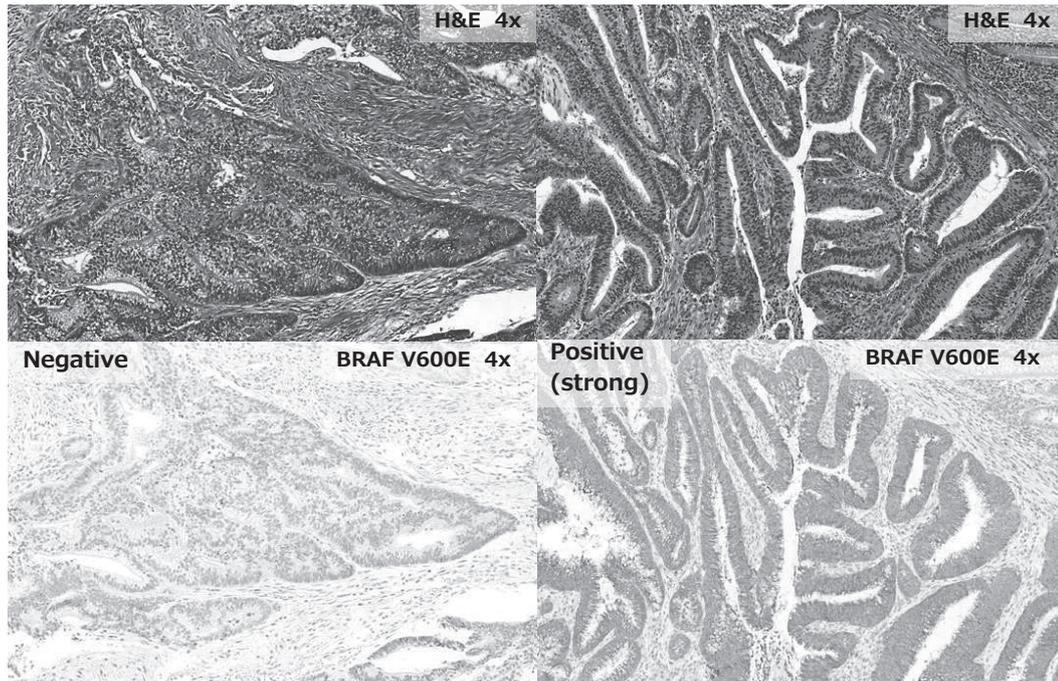


図1 BRAF変異タンパク検出キットによる免疫組織化学染色

BRAF変異タンパク検出キットを用いた免疫組織化学染色

BRAF変異陰性大腸癌組織のH&E染色(左上)、BRAF V600E免疫組織化学染色(左下)：細胞質が染色されず、陰性と判定された。

BRAF変異陽性大腸癌組織のH&E染色(右上)、BRAF V600E免疫組織化学染色(右下)：細胞質が染色されており、陽性(強陽性)と判定された。

VENTANA MMR IHC Panel Interpretation Guide for Staining of Colorectal Tissueより抜粋、一部改変
(ロシユ・ダイアグノスティックス株式会社より許可を得て掲載)

(図1は巻末にカラーで掲載しています)

おわりに

大腸がんにおける *BRAF* 変異の臨床病理学的特徴や臨床的意義、治療、*BRAF* V600E 変異検査について概説した。大腸がんの個別化医療が進む中、*BRAF* 変異陽性大腸がんに対する検査や治療開発も今後さらに進んでいくことが予想される。エビデンスが蓄積され、*BRAF* 変異陽性大腸がんに対する治療成績向上が得られることを期待する。

文献

- 1) 日本臨床腫瘍学会：大腸がん診療における遺伝子関連検査等のガイドランス 第5版 2023年3月, 金原出版
- 2) 最新がん統計：[国立がん研究センター がん登録・統計] https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/summary.html
- 3) 大腸癌研究会：大腸癌治療ガイドライン 医師用 2022年版, 金原出版
- 4) Huira Chong, Haris G. Vikis, Kun-Liang Guan.: Mechanisms of regulating the Raf kinase family. *Cell Signal.* 2003; 5: 463-469.
- 5) Wan PT, Garnett MJ, Rose SM, et al: Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell.* 2004; 116(6): 855-867.
- 6) Sabine Venderbosch, Iris D. Nagtegaal, Tim S. Maughan et al.: Mismatch Repair Status and BRAF Mutation Status in Metastatic Colorectal Cancer Patients: A Pooled Analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS Studies. *Clin Cancer Res.* 2014; 20(20): 5322-5330.
- 7) Dong Chen, Jun-Fu Huang, Kai Liu et al.: BRAFV600E Mutation and Its Association with Clinicopathological Features of Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2014; 9: e90607.
- 8) Cremolini C, Fotios Loupakis, Carlotta Antoniotti et al.: FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol.* 2015; 16: 1306-1315.
- 9) Chiara Cremolini, Carlotta Antoniotti, Alexander Stein et al.: Individual Patient Data Meta-Analysis of FOLFOXIRI

- Plus Bevacizumab Versus Doublets Plus Bevacizumab as Initial Therapy of Unresectable Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2020; **38**(28): 3314-3324.
- 10) Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, et al.: Encorafenib, Binimetinib, and Cetuximab in BRAF V600E-Mutated Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 2019; **381**(17): 1632-1643.
 - 11) Eric Van Cutsem, Julien Taieb, Rona Yaeger et al.: ANCHOR CRC: Results From a Single-Arm, Phase II Study of Encorafenib Plus Binimetinib and Cetuximab in Previously Untreated BRAF V600E-Mutant Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2023; **41** (14): 2628-2637.
 - 12) Vincenzo Formica, Francesco Sera, Chiara Cremolini et al.: KRAS and BRAF Mutations in Stage II and III Colon Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2022; **114**(4): 517-527.
 - 13) Thierry André, Armand de Gramont, Dewi Vernerey et al.: Adjuvant Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin in Stage II to III Colon Cancer: Updated 10-Year Survival and Outcomes According to BRAF Mutation and Mismatch Repair Status of the MOSAIC Study. *J Clin Oncol.* 2015; **33**(35): 4176-4187.
 - 14) Georgios Antonios Margonis, Stefan Buettner, Nikolaos Andreatos, et al.: Association of BRAF Mutations With Survival and Recurrence in Surgically Treated Patients With Metastatic Colorectal Liver Cancer. *JAMA Surg* 2018. **153**: e180996.
 - 15) Boland CR, Goel A.: Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2010; **138**(6): 2073-2087.
 - 16) McGivern A, Wynter CVA, Whitehall VLJ, et al.: Promoter hypermethylation frequency and BRAF mutations distinguish hereditary non-polyposis colon cancer from sporadic MSI-H colon cancer. *Fam Cancer* 2004; **3**(2) 101-107.
 - 17) 大腸癌研究会：遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2020年版, 金原出版
 - 18) Pyo JS, Sohn JH, Kanget Guhyun.: Diagnostic Accuracy of BRAF Immunohistochemistry in Colorectal Cancer: a Meta-Analysis and Diagnostic Test Accuracy Review. *Pathol Oncol Res.* 2016; **22**: 831-837.

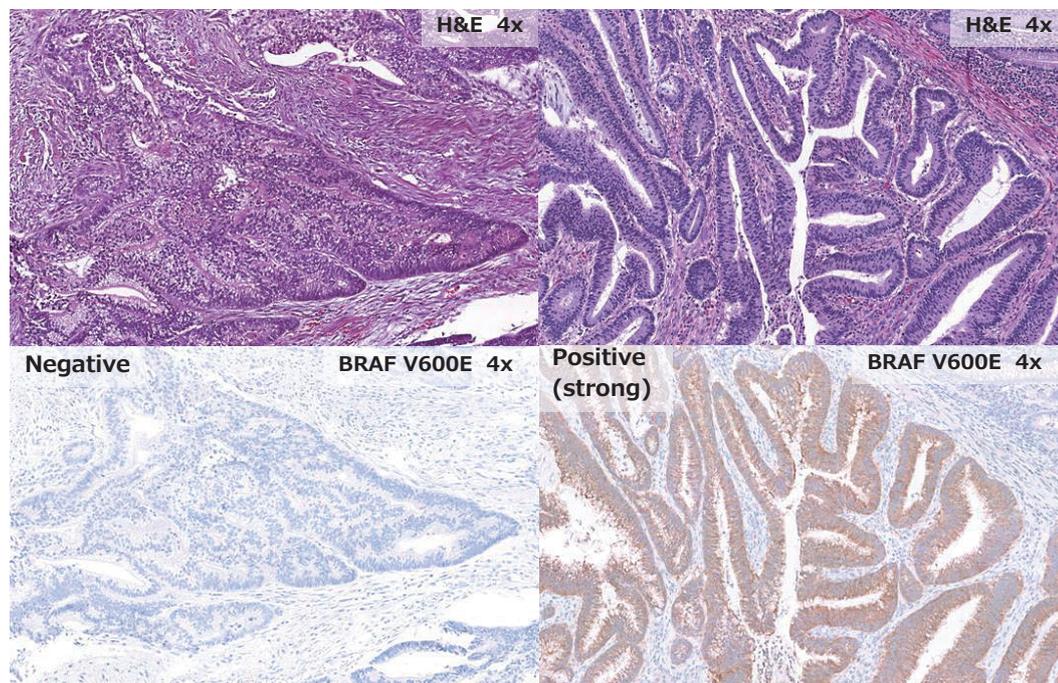


図1 BRAF変異タンパク検出キットによる免疫組織化学染色

BRAF変異タンパク検出キットを用いた免疫組織化学染色

BRAF変異陰性大腸癌組織のH&E染色(左上)、BRAF V600E免疫組織化学染色(左下)：細胞質が染色されず、陰性と判定された。

BRAF変異陽性大腸癌組織のH&E染色(右上)、BRAF V600E免疫組織化学染色(右下)：細胞質が染色されており、陽性(強陽性)と判定された。

VENTANA MMR IHC Panel Interpretation Guide for Staining of Colorectal Tissueより抜粋、一部改変
(ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社より許可を得て掲載)