

日本肺癌学会バイオマーカー委員会編
肺癌患者におけるバイオマーカー検査の手引き

4. バイオマーカー検査の対象となる遺伝子とその異常

4-4. BRAF

(2024年4月改訂 v2.0)

目次

(1) BRAF 遺伝子とその遺伝子変異	2
(2) BRAF 変異陽性肺癌の臨床病理学的特徴	3
(3) BRAF V600E 陽性肺癌に対する治療戦略と臨床試験	4
(4) BRAF 変異の診断	4
1. オンコマイン™ Dx Target Test マルチ CDx システム (オンコマイン DxTT)	4
2. AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル	4
3. その他の方法	4
参考文献	6

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

阪本 智宏, 荒金 尚子, 後藤 功一, 里内 美弥子, 枝園 和彦, 須田 健一, 宗 淳一, 朝重 耕一, 畑中 豊, 松本 慎吾, 三窪 将史, 谷田部 恭, 横内 浩, 清水 淳市, 豊岡 伸一

(1) BRAF 遺伝子とその遺伝子変異

v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF) タンパク質は、細胞内シグナル伝達経路の1つである RAS-RAF-MEK-ERK 経路 (MAPK 経路) の構成因子であるセリン/スレオニン プロテインキナーゼ RAF ファミリータンパク質の1つであり、細胞の分化・増殖に関与している (図 1)。このタンパク質をコードする BRAF 遺伝子は、7 番染色体長腕 (7q34) に位置し、全長 190kb、18 エクソンで構成されている。

2002 年に Davies ら¹は、悪性黒色腫や大腸癌、肺癌などの様々な癌種において BRAF 遺伝子変異が起こっていることを発見した。悪性腫瘍で起こる BRAF 遺伝子変異は、BRAF タンパク質の activation loop (A-loop) をコードするコドン 599~602 と、phosphate binding loop (P-loop) をコードするコドン 464~469、およびこれらの周辺に集中している (図 2)。悪性黒色腫においては BRAF 遺伝子変異のほとんどが V600E 変異であるが、肺癌で起こる BRAF 遺伝子変異は V600E 変異が約半数であり、その他の変異タイプ (non-V600E 変異) が比較的

多いのが特徴といえる²。BRAF V600E 変異は BRAF キナーゼの活性化を引き起こし、下流シグナルである ERK の恒常的なリン酸化が起こること、またこのシグナル伝達経路の活性化によって悪性細胞への形質転換をもたらすことが知られているが¹、BRAF non-V600E 変異には生物学的意義が不明なものもあり、これまでのところ肺癌における BRAF を標的とした治療開発は、V600E 陽性例に限定して行われている。

悪性黒色腫や甲状腺癌における BRAF 遺伝子変異の頻度は約 40%であるが、非小細胞肺癌においては 1~3%と希少頻度である^{2,3}。2013 年から本邦で行われている、全国規模の肺癌遺伝子スクリーニングプロジェクト (Lung Cancer Genomic Screening Project for Individualized Medicine in Japan: LC-SCRUM-Japan) では、EGFR 遺伝子変異陰性の非扁平上皮非小細胞肺癌において BRAF 遺伝子変異は 5% (83/1,688 例) で、V600E 変異に限ると 2% (34/1,688 例) であり、ALK, ROS1 や KRAS などのその他のドライバー変異と相互排他性が認められた⁴。LC-SCRUM-Japan は、主に EGFR 遺伝子変異陰性例を対象にして遺伝子解析を行っていることから、EGFR 遺伝子変異が非扁平上皮非小細胞肺癌の約 50%を占めると考え

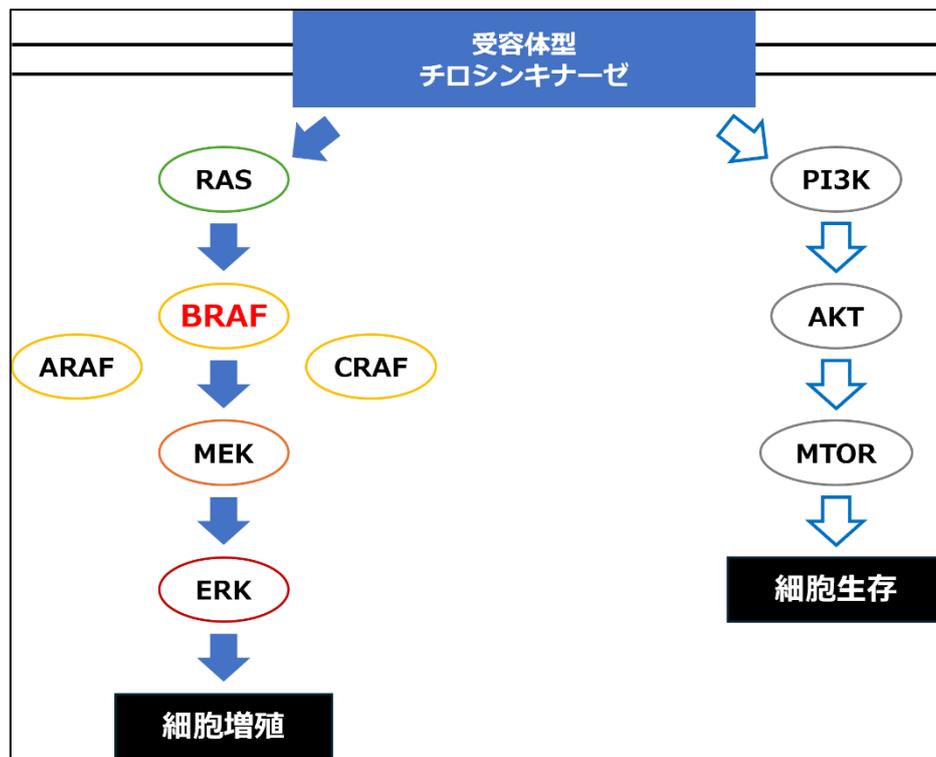


図 1. 細胞の増殖、生存に関わる細胞内シグナル伝達経路
Reproduced with permission from Elsevier (2021)

ると、BRAF V600E 変異の頻度は非扁平上皮非小細胞肺癌の約 1%と考えられる (図 3)。

(2) BRAF 変異陽性肺癌の臨床病理学的特徴

Ding らの報告では、non-V600E 変異 4 例を含む BRAF 遺伝子変異患者 28 例のうち、43% (12/28 例) が男性、21% (6/28 例) が喫煙者であり、年齢中央値は 64 歳 (37-78 歳) であった⁸。LC-SCRUM-Japan においては、BRAF V600E 陽性患者の 68% (23/34 例) が男性、65% (22/34 例) が喫煙者であり、年齢中央値は 65 歳 (39-85 歳) で

あった。また、腺癌が 97% (33/34) であり、1 例は扁平上皮癌 (1/264 例)、小細胞肺癌 309 例の解析では変異例を認めなかった。以上より、BRAF V600E 陽性肺癌の特徴として、組織型は非小細胞肺癌、特に腺癌であること、非喫煙者/軽喫煙者にも認められるが、喫煙者に多い傾向があること、EGFR/ALK/ROS1 といったその他のドライバー変異とは相互排他性があることが挙げられる^{2,5-7}。EGFR/ALK/ROS1 肺癌とは異なり、若年者や女性に多い傾向はなく、傾向としては KRAS 肺癌と類似している。病理学的には、腺癌の垂型として acinar predominant type が最も多く、solid predominant type が次いで多くみら

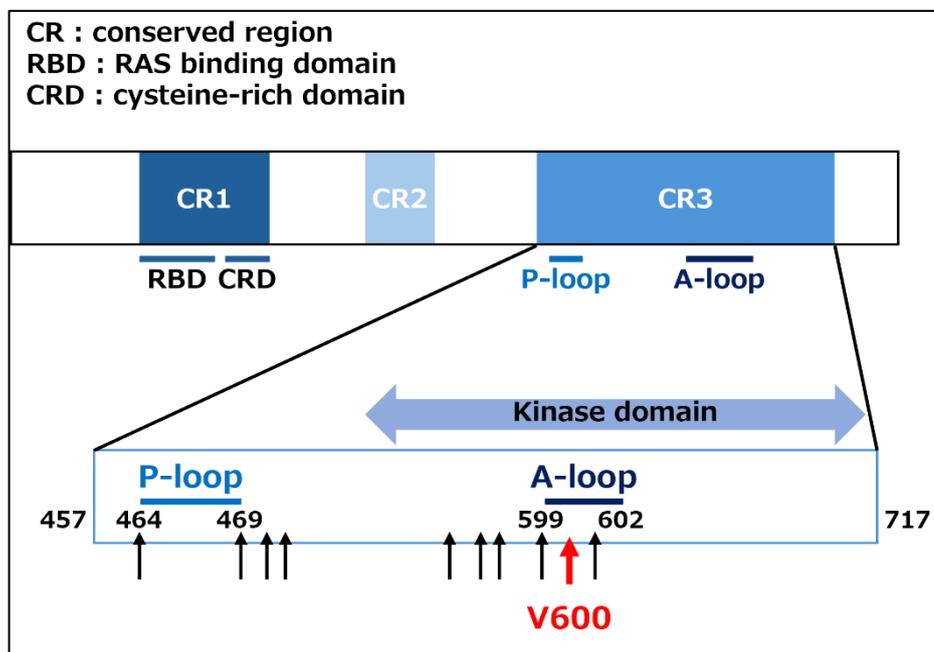


図 2. BRAF の蛋白構造と非小細胞肺癌における BRAF 遺伝子変異の種類 (LC-SCRUM-Japan のデータより。矢印 (↑) は変異箇所を示す)

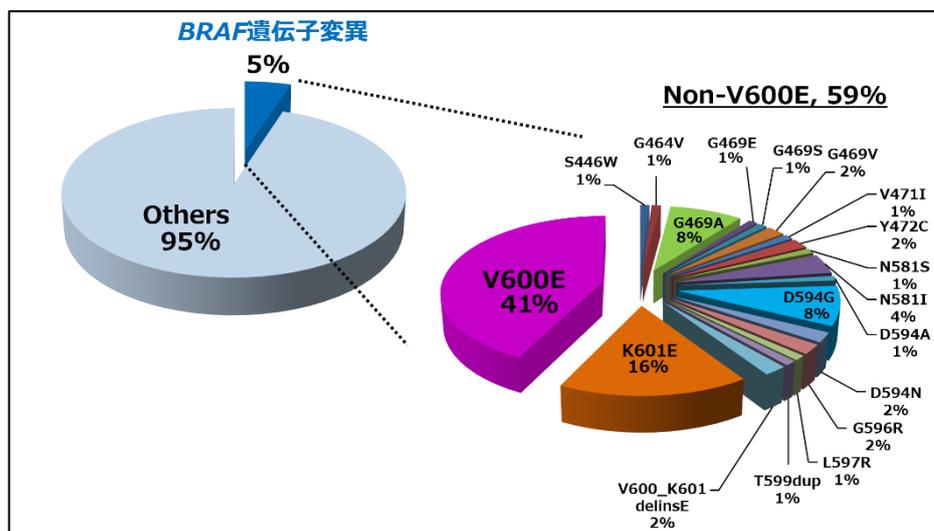


図 3. LC-SCRUM-Japan における BRAF 遺伝子変異の頻度 (EGFR 変異陰性非扁平上皮非小細胞肺癌 1,688 例の解析結果)

れるとされる⁷。

LC-SCRUM-Japan で同定された BRAF V600E 陽性肺癌において、一次治療としてプラチナ併用化学療法が行われた 20 例の治療成績をみると、奏効割合は 30% (6/20 例)、病勢制御割合は 75% (15/20 例)、無増悪生存期間中央値は 13.7 カ月 (95%CI: 7.9-31.9 カ月) であった。これは過去の非小細胞肺癌に対する一次化学療法の治療成績と比較してやや良好な傾向を示しており、細胞傷害性抗癌薬も BRAF V600E 変異陽性肺癌に対して一定の効果を有すると考えられる。

(3) BRAF V600E 陽性肺癌に対する治療戦略と臨床試験

BRAF V600E 陽性非小細胞肺癌に対する治療開発として、未治療または既治療例を対象に BRAF 阻害薬ダブラフェニブ単剤療法、あるいはダブラフェニブと MEK 阻害薬トラメチニブ併用療法の国際多施設共同第 II 相試験 (BRF113928 試験) が行われた。この臨床試験は 3 つのコホートで行われ、BRAF V600E 陽性非小細胞肺癌に対するダブラフェニブ単剤の治療効果をみたコホート A には、未治療例が 6 例、二次治療以降の症例が 78 例登録された。既治療例 78 例のうち 26 例で部分奏効 (PR) が得られ、奏効割合は 33% (95%CI: 23-45%)、奏効期間中央値は 9.6 ヶ月 (95%CI: 5.4-15.2 カ月)、無増悪生存期間中央値は 5.5 ヶ月 (95%CI: 3.4-7.3 カ月) であった。また、未治療例 6 例のうち 4 例は PR が得られ、無増悪生存期間は 4.0~16.6 カ月であった⁹。BRAF V600E 陽性の既治療非小細胞肺癌に対するダブラフェニブとトラメチニブの併用療法の効果をみたコホート B では、57 例中 2 例の完全奏効 (CR) と 34 例の PR が得られ、奏効割合は 63.2% (95%CI: 49.3-75.6%)、奏効期間中央値は 9.0 カ月 (95%CI: 6.9-18.3 カ月)、無増悪生存期間中央値は 9.7 カ月 (95%CI: 6.9-19.6 カ月) であった¹⁰。一方、コホート C では、未治療の BRAF V600E 陽性非小細胞肺癌に対してダブラフェニブとトラメチニブの併用療法が行われ、36 例中 2 例の CR と 21 例の PR が得られ、奏効割合は 64% (95%CI: 46-79%)、奏効期間中央値は 10.4 カ月 (95%CI: 8.3-17.9 カ月)、無増悪生存期

間中央値は 10.9 カ月 (95%CI: 7.0-16.6 カ月) であった¹¹。これらの結果に基づき、BRAF V600E 陽性肺癌に対するダブラフェニブ (タフィンラー[®]) とトラメチニブ (メキニスト[®]) の併用療法が、2017 年 4 月に欧州 EMA で、同 6 月に米国 FDA で承認された。同様に、本邦でも 2016 年 12 月に承認申請され、2018 年 3 月に承認された。

(4) BRAF 変異の診断

1. オンコマイン[™] Dx Target Test マルチ CDx システム (オンコマイン DxTT)

オンコマイン DxTT は、NGS を用いた遺伝子パネル検査であり、がん関連 46 遺伝子の標的領域を PCR で増幅してシーケンス解析を行い、遺伝子異常を検出する。本邦では、2018 年に BRAF V600E 陽性非小細胞肺癌に対するダブラフェニブ+トラメチニブ併用療法のコンパニオン診断薬として承認された。その後、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌や ALK 融合遺伝子陽性肺癌をはじめとする様々な標的治療薬のコンパニオン診断薬としても承認され、現在ではオンコマイン DxTT は 6 つのドライバー遺伝子を同時に診断するマルチ遺伝子検査となっている。

2. AmoyDx[®] 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル

AmoyDx[®] 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネルは、リアルタイム PCR 法を用いたマルチ遺伝子診断薬であり、肺癌関連 11 遺伝子の主要な領域を標的に、遺伝子異常を検出する。本邦では、2021 年 6 月に EGFR、ALK、ROS1、BRAF および MET を標的とする各々の分子標的薬のコンパニオン診断薬として承認された。さらにその後、2023 年 3 月に RET 融合遺伝子陽性肺癌に対するセルペルカチニブのコンパニオン診断薬としても承認された。このキットは、上記遺伝子に KRAS を加えた 7 つのコンパニオン診断対象ドライバー遺伝子に加え、HER2、NTRK1-3 の解析もできるように設計されている。

3. その他の方法

肺がん コンパクトパネル[®] Dx マルチコンパニオン診

断システムは、NGS を用いたマルチ遺伝子診断薬で、本邦で開発された。FFPE 検体の他に、細胞診検体についても比較的容易に検査提出が可能となっている。2023 年 2 月に 4 遺伝子 (*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *MET*) に、2024 年 2 月には追加で 3 遺伝子 (*BRAF*, *KRAS*, *RET*) について保険適用となった。

その他の検査として、本邦では、腫瘍組織を用いた遺伝子パネル検査である「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」と「OncoGuide™ NCC オンコパネル システム」、 「GenMineTOP®がんゲノムプロファイリングシステム」が承認されている。また血液検体を用いた遺伝子パネル検査としては「FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル」と「Guardant360™ CDx がん遺伝子パネル」が承認されている。これらはいずれも、腫瘍組織由来あるいは血漿由来の DNA を用いて合成核酸とのハイブリダイゼーションによって標的領域を濃縮し、シーケンス解析を行う。現時点では、リキッド解析による融合遺伝子の診断精度はまだ低く、偽陰性と診断される危険性が高いため、組織を用いた遺伝子検査を優先すべきである。いずれの検査においても、*BRAF* 遺伝子変異はコンパニオン診断の対象ではなく、包括的がんゲノムプロファイル (CGP) 検査の解析対象である。したがって、これらのパネルを用いた CGP 検査で *BRAF* 遺伝子変異が検出され

た場合、エキスパートパネルによる推奨が必要となる。なお、NGS を用いた遺伝子パネル検査を実施するにあたっては、日本臨床腫瘍学会、日本癌治療学会、日本癌学会の 3 学会から合同で発出している「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン¹²⁾」や、肺癌患者におけるバイオマーカー検査の手引き「2. バイオマーカー検査の流れとマルチプレックス遺伝子検査」、「3. バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い」の項も参照されたい。

また、悪性黒色腫では、アリル特異的 PCR 法を原理としたロシュ・ダイアグノスティックス社の「コバス® BRAF V600 変異検出キット」が、*BRAF* 阻害薬ベムラフェニブの CDx として承認されている。また同様に、ダブルフェニブおよびトラメチニブの CDx としてはシスメックス・バイオメリュー社の「THxID® BRAF キット」が承認されている。悪性黒色腫の場合、コバス® BRAF V600 変異検出キットは、ダイレクトシーケンス法との比較において、陽性一致率 92.7%、陰性一致率 90.8%であったとされる。また、THxID® BRAF キットもダイレクトシーケンス法との比較において、98%の陽性一致率を示したとされる。これらの結果から、PCR 法は *BRAF* V600E 変異診断において有用な手法であるといえるが、現在のところ、これらのキットの適応は悪性黒色腫のみであり、肺癌における *BRAF* 遺伝子検査法としては承認されていない。

参考文献

1. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417:949-954
2. Paik PK, Arcila ME, Fara M, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol* 2011; 29:2046-2051
3. Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol* 2011; 12:175-180
4. 松本慎吾. 全国肺癌ゲノムスクリーニングプロジェクト (LC-SCRUM-Japan) におけるクリニカルシーケンス. 第 58 回日本肺癌学会学術集会 2017 (S2-1) .
5. Kinno T, Tsuta K, Shiraishi K, et al. Clinicopathological features of nonsmall cell lung carcinomas with BRAF mutations. *Ann Oncol* 2014; 25:138-142
6. Litvak AM, Paik PK, Woo KM, et al. Clinical characteristics and course of 63 patients with BRAF mutant lung cancers. *J Thorac Oncol* 2014; 9:1669-1674
7. Zheng D, Wang R, Pan Y, et al. Prevalence and Clinicopathological Characteristics of BRAF Mutations in Chinese Patients with Lung Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2015; 22 Suppl 3:S1284-1291
8. Ding, X, Zhang, Z, Jiang, T, et al. Clinicopathologic characteristics and outcomes of Chinese patients with non-small-cell lung cancer and BRAF mutation. *Cancer Med* 2017 ; 6 : 555-562
9. Planchard D, Kim TM, Mazieres J, et al. Dabrafenib in patients with BRAF(V600E)- positive advanced non-small-cell lung cancer: a single-arm, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17:642-650
10. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17:984-993
11. Planchard D, Smit EF, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAFV600E-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18:1307-1316
12. 日本臨床腫瘍学会, 日本癌治療学会, 日本癌学会. 次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン (第 1.0 版) . 2017 年.