

【背景】

近年の食生活の欧米化および人口構成の高齢化によって大腸癌の発生数が増加し、それに伴い難治性大腸癌 (mCRC) が増加している。mCRC に対して抗 EGFR (epidermal growth factor receptor) 抗体による分子標的療法の有効性が大規模調査から確認された。EGFR の下流の細胞内シグナル伝達の一つが *KRAS* 遺伝子であり、約 30-40%の大腸癌で変異が認められ、*KRAS* 遺伝子変異が起きると EGFR の細胞内シグナル伝達が制御不能となり癌の増殖が促進するとされている。よって mCRC の治療選択上、*KRAS* 遺伝子の解析が日常的に行われている。

【目的】

本研究では *KRAS* 遺伝子解析から 109 例の mCRC の臨床病理学的諸因子と mCRC の動向を明らかにすることが目的である。

【対象と方法】

2007 年から 2012 年の間に、日本人 109 人の外科的切除または生検された検体を用いた。年齢、性別、解剖学的部位、肉眼型、組織型、進行期分類 (UICC stage、Dukes' classification) について臨床病理学的分類を行った。*KRAS* 遺伝子解析は 68 例を ARMS/S (Amplification Refractory Mutation System-Scorpion) assay、41 例を direct sequence 法でおこなった。

全ての統計解析は StatView for Windows Version 5.0 を用いた。項目ごとの比較は Chi-squared test または Fisher's exact test を用いた。 $P < 0.05$ を統計学的に有意とみなした。

【結果】

ARMS/S 法を用いた解析では codon12 変異 36.5%、codon13 変異 7.4%、Direct Sequence 法を用いた解析では codon12 変異 24.4%、codon13 変異 19.5%であり、全 109 症例でみると *KRAS* 遺伝子変異 37.6%、うち codon12 変異 25.7%、codon13 変異 11.9%であった。*KRAS* 変異と臨床病理学的因子の間には明らかな有意差はみられなかった。*KRAS* codon13 変異検体は 65 歳以下の女性で多くみられた ($P=0.035$)。

【考察】

全大腸癌における *KRAS* 変異の頻度は 30-40%と報告されている。本研究での *KRAS* 変異率は 37.6%と既報の大腸癌における変異頻度 30-40%と同等であった。

変異部位 (codon) については、*KRAS* codon12 変異は 25.7%、*KRAS* codon13 変異は 11.9%にみられた。他の既報の mCRC におけるそれぞれの変異頻度でも同様の傾向が示されている。*KRAS* 変異型大腸癌ではおよそ 70-80%が codon12 領域に認められるとされている。今回、*KRAS* 変異がみられた症例の 31.6%が codon13 であったことは既報の割合とほぼ同等であった。

さらに、*KRAS* codon12 変異症例は性別、年齢にかかわらず認められたが、codon13 変異症例は 65 歳以下の女性に有意に認められた。

その原因について文献的に考察してみると、女性ホルモンや胆汁組成、胆汁酸生成、便の通過時間、大腸細菌叢、揮発性脂肪酸の産生が **mutagen** として関与している可能性が考えられている。さらに、**codon12 G→C transversions** は主に女性の近位結腸癌と男性の遠位大腸癌で見られると報告されている。

最近 **mCRC** に対して用いられている抗 **EGFR** 抗体 **cetuximab** 治療に関する大規模研究では **KRAS codon13** 変異の症例は他の部位の **KRAS** 変異症例よりも生存期間が長かったと報告されている。このことは細胞株を用いた研究において **codon13** 変異遺伝子導入細胞株が **codon 12** 変異遺伝子導入細胞株よりも形質転換能が低く、アポトーシスを誘導するためとの結果とも一致しており、**65** 歳以下の女性で **codon13** 変異が優位であったことは、**KRAS** 遺伝子変異による病態の差異を示唆している可能性があり興味深い。

一方、以前から **codon13** の **transitions** 変異は文献的にはホルマリン固定標本のアーチファクトである可能性も指摘されており、**codon13** 変異については注意深い解釈も必要である。今回も **codon12** は **transversions** も **transitions** もみられたが、**codon13** は **transitions** のみであった。我々が以前行った検索方法の精度検討では **codon 12 G→T transversion** と **KRAS** 遺伝子変異野生型を有することが知られている培養細胞から抽出した **DNA** を混合したサンプルを作成し、遺伝子解析を行ったところ、低濃度のサンプルにおいて存在し得ない遺伝子異常である **codon 13 G→T transversion** が検出された。このことから **codon13** の意義についてはアーチファクトも含めて今後の課題といえる。

【結論】

mCRC における **KRAS** 遺伝子変異の頻度は既報の **non-mCRC** 症例における変異頻度と同等であった。今回の結果からは **65** 歳以下の女性の **mCRC** に **codon13** 変異が多くみられた理由については不明であるが、多施設大規模試験による **mutagen** や変異解析方法を含めた **KRAS codon 13** 変異の動態の再検討が望まれる。