

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08698

研究課題名(和文) 胃癌DNA二重鎖損傷修復機構破綻の包括的評価と臨床的意義の解明

研究課題名(英文) Clinical significance of defective DNA double-strand break repair pathway in gastric cancer

研究代表者

堅田 朋大 (Katada, Tomohiro)

新潟大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：20815782

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：相同組換え修復(Homologous Recombination: HR)はDNA損傷の修復機構であり、HRの異常は胃癌の化学療法で一般的に用いられる白金系抗癌剤の治療効果に関与している可能性がある。本研究では、複数の遺伝子の異常を同時に解析可能ながん遺伝子パネル検査にてHR関連遺伝子に異常を認めた胃癌では、白金系抗癌剤の治療効果が高く、治療開始後の予後も良好であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では現在保険診療として臨床使用されているがん遺伝子パネル検査による遺伝子解析結果を用い、DNA損傷修復機構に関わる遺伝子異常が胃癌の化学療法における一次治療や術前治療で用いられる白金系抗癌剤の治療効果に関与していることを明らかにした。現在のがん遺伝子パネル検査は標準治療以降の治療薬を探索するために用いられている。本研究の結果は、がん遺伝子パネル検査は胃癌の一次治療の選択や術前治療に効果の高い症例を選択することにも役立つ可能性を示唆している。本研究から、今後のがん遺伝子パネル検査の適用拡大や胃癌治療の発展のために重要な知見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：Homologous recombination (HR) deficiency due to the genetic alteration of HR genes contributes to a more favorable response to platinum-based chemotherapy in ovarian and breast cancers. However, the association between HR deficiency and the treatment response to platinum-based chemotherapy has not been elucidated in gastric cancer (GC).

We explored the clinical significance of HR deficiency detected by cancer gene panel testing in association with platinum-based chemotherapy for unresectable metastatic GC.

The somatic alterations of HR genes were identified in 23% of patients with unresectable metastatic GC. HR deficiency was associated with significantly better response to platinum-based chemotherapy and favorable outcomes after treatment for unresectable metastatic GC. The clinical utility of assessing for HR deficiency in platinum-based chemotherapy is worth exploring in further large-scale validation studies to improve patient outcomes associated with GC.

研究分野：消化器外科学

キーワード：胃癌 相同組換え修復 がん遺伝子パネル検査 白金系抗癌剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

切除不能・進行再発胃癌に対する治療の中心は、多剤併用化学療法である。日本においては cisplatin を 5-FU 系の経口抗癌剤である S-1 に併用する SP 療法が開発され、生存期間中央値は 13 か月にまで改善された (*Lancet Oncol* 2008)。近年では同じく白金系抗癌剤の oxaliplatin を用いた SOX 療法の SP 療法に対する非劣性が証明された (*Ann Oncol* 2015)。このように、切除不能・進行再発胃癌に対する化学療法の発展において、cisplatin や oxaliplatin といった白金系抗癌剤は予後の改善に大きく寄与し、5-FU に並ぶ Key drug の 1 つとなった。しかしながら、このような白金系抗癌剤を用いた多剤併用療法に対して抵抗性を示す症例も経験される。治療前に白金系抗癌剤の治療効果を予測できれば、治療戦略を立てるために有益な情報となる可能性がある。

癌治療の分野においては DNA 修復機構が放射線や抗癌剤治療の効果に關与する可能性が示唆されている。その中でも DNA 二本鎖損傷の修復機構である相同組換え修復 (Homologous Recombination: HR) に關与する遺伝子の異常は白金系抗癌剤の感受性と強い關連がある (*Nat Rev Cancer* 2012)。The Cancer Genome Atlas (TCGA) により行われた胃癌 289 例を対象とした大規模な全エクソーム解析では、HR 關連遺伝子の異常は 31% の症例に認められた。しかしながら、TCGA では抗癌剤治療に關する臨床情報は集積されておらず、HR 關連遺伝子異常と白金系抗癌剤の治療効果については解析されていない。

これまでに申請者らは日本人胃癌 207 例に対し、癌遺伝子解析パネルを用いた大規模な包括的癌遺伝子解析研究を施行し、日本人胃癌の約 31% に上述した HR 關連遺伝子異常を認めることを明らかにした (*Genome Med* 2017)。癌遺伝子解析パネルは包括的に HR 關連遺伝子異常を評価することが可能であり、胃癌における白金系抗癌剤治療の最適化にとって有用な可能性がある。しかしながら、癌遺伝子解析パネルで HR 關連遺伝子異常を認めた症例の腫瘍組織において、本当に DNA 二本鎖損傷が蓄積しているのか、白金系抗癌剤の治療効果と關連は認められるのかは明らかにできていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「癌關連 435 遺伝子で構成された癌遺伝子解析パネルにより胃癌における Homologous Recombination (HR) 關連遺伝子異常の評価、およびその臨床的意義を明らかにすることで、HR 關連遺伝子異常を基軸とした胃癌薬物治療の発展への足がかりとすること」である。本研究では癌遺伝子解析パネルによる HR 關連遺伝子異常の評価と、胃癌腫瘍組織における DNA 二本鎖損傷の評価とを比較することで、その精度を明らかにし、胃癌 HR 關連遺伝子異常と白金系抗癌剤の治療効果の關連と、胃癌 DNA 二本鎖修復機構の破綻と白金系抗癌剤の治療効果との關連を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 対象

癌遺伝子解析パネルによる遺伝子解析を施行した 207 例のうち、術後再発に対して白金系抗癌剤による薬物治療を施行した 26 例を対象とした。

(2) HR 關連遺伝子異常の評価

先行研究にて癌遺伝子解析パネル (CANCERPLEX; KEW Inc., Cambridge, MA) を用いて癌關連 435 遺伝子の一塩基置換、挿入・欠失、コピー数変化、マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability, MSI) を評価した。対象症例の遺伝子解析結果から、HR 關連遺伝子として BRCA1、BRCA2、RAD50、RAD51C、RAD51D、BARD1、BLM、PALB2、FANCD2 の解析結果を抽出した。これらの遺伝子に何らかの異常を認めた症例は deficient HR 群、それ以外を proficient HR 群と定義した。

(3) DNA 二本鎖損傷の評価

DNA 二本鎖損傷の評価には γ H2AX の免疫組織化学染色を用いた。胃原発巣のホルマリン固定後パラフィン包埋ブロックから 4 μ m で薄切した腫瘍組織を用い、抗 γ H2AX 抗体を用いた免疫組織化学染色を行った。核が染色された腫瘍細胞を陽性と判定し、腫瘍細胞中の陽性細胞の割合 (labeling index; LI) を計測した。

(4) 白金系抗癌剤の治療効果

診療録から術後再発や治療内容に關する臨床情報を後方視的に抽出した。治療効果は胸部腹部骨盤腔の造影 CT 検査画像を用いた RECIST ver.1.1 に準じて評価した。奏効率 (objective response rate, ORR) と病勢制御率 (disease control rate, DCR) は測定可能病変のある症例の治療中最良効果をもとに検討した。ORR は完全奏効 (CR)、部分奏効 (PR) の割合、DCR は CR、PR に病状安定 (SD) を加えた割合とした。全生存期間 (OS) は白金系抗癌剤治療

開始から全ての死亡まで、無増悪生存期間(PFS)は病状悪化や死亡までの期間と定義した。観察期間中央値(範囲)は 11 か月(2.9–51.7 か月)であった。

4 . 研究成果

(1) 癌遺伝子解析パネルで同定される HR 関連遺伝子異常

BRCA1 は 3 例(12%)、BRCA2 は 2 例(8%)、RAD50 は 2 例(8%)に変異を認めた。BARD1、BLM、FANCD2 はそれぞれ 1 例(4%)に変異を認めた。RAD51C、RAD51D、PALB2 の異常は認められなかった。全 26 例のうち 6 例(23%)に HR 関連遺伝子に何らかの異常を認めた。deficient HR 群 6 例と proficient HR 群 20 例との比較では臨床病理学的因子に有意な差は認められなかった。

(2) HR 関連遺伝子異常と γ H2AX 発現による DNA 二本鎖損傷の評価

原発巣腫瘍組織における γ H2AX 発現を免疫染色にて評価した。 γ H2AX-LI 中央値(範囲)は deficient HR 群が 15.6 (0.6–43.5)、proficient HR 群が 8.3 (0.7–49.6)であったが有意な差は認められなかった($P=0.84$)。

(3) HR 関連遺伝子異常と白金系抗癌剤治療効果

26 例のうち白金系抗癌剤で CR を得られた症例は認められなかった。PR の割合は deficient HR 群で 50%、proficient HR 群で 20%であった。PD の割合は deficient HR 群で 0%、proficient HR 群で 55%であった。ORR は deficient HR 群で 60%、proficient HR 群で 27%であった($P=0.29$)。一方 DCR は deficient HR 群で 100%、proficient HR 群で 47%と deficient HR 群で有意に高かった($P=0.04$)。測定可能病変のある 20 例の Waterfall plot を図 2 に示す。deficient HR 群の全例で白金系抗癌剤治療による腫瘍縮小を認めた。

(4) HR 関連遺伝子異常と予後

deficient HR 群と proficient HR 群の白金系抗癌剤治療開始後の予後を比較した。deficient HR 群の PFS 中央値は 8 か月であり、proficient HR 群の 3 か月と比較して良好であった($P=0.025$)。

同様に OS も deficient HR 群は中央値 18 か月であり、proficient HR 群の 8 か月と比較して有意に良好であった($P=0.023$)。

(5) 成果のまとめ

胃癌において HR 関連遺伝子の異常は 23%に認められる。

HR 関連遺伝子の異常は切除不能進行再発胃癌に対する白金系抗癌剤を含む化学療法の治療効果に関与している可能性がある。

癌遺伝子解析パネルは分子標的治療だけでなく、殺細胞性抗癌剤治療の最適化にも利用できる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hiroshi Ichikawa, Hiroshi Yabusaki, Takaaki Hanyu, Yoshifumi Shimada, Masayuki Nagahashi, Jun Sakata, Takashi Kobayashi, Satoru Nakagawa, Hitoshi Kameyama, Toshifumi Wakai |
| 2. 発表標題 Genomic alteration spectrum and future direction of targeted therapy for gastric cancer |
| 3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tomoyuki Katada, Hiroshi Ichikawa, Yuki Hirose, Masayuki Nagahashi, Yoshifumi Shimada, Takaaki Hanyu, Takashi Ishikawa, Yosuke Kano, Yusuke Muneoka, Jun Sakata, Takashi Kobayashi, Hitoshi Kameyama, Toshifumi Wakai |
| 2. 発表標題 Defective Homologous Recombination in Platinum-based Chemotherapy for Gastric Cancer |
| 3. 学会等名 14th Annual Academic Surgical Congress（国際学会） |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|-------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 若井 俊文 (Wakai Toshifumi) (50372470) | 新潟大学・医歯学系・教授 (13101) | |
| 研究分担者 | 市川 寛 (Ichikawa Hiroshi) (50721875) | 新潟大学・医歯学系・助教 (13101) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|---------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 島田 能史 (Shimada Yoshifumi) (20706460) | 新潟大学・医歯学系・講師 (13101) | |
| 研究分担者 | 永橋 昌幸 (Nagahashi Masayuki) (30743918) | 新潟大学・医歯学総合病院・研究准教授 (13101) | |
| 研究分担者 | 羽入 隆晃 (Hanyu Takaaki) (50719705) | 新潟大学・医歯学総合病院・助教 (13101) | |
| 研究分担者 | 小杉 伸一 (Kosugi Shin-ichi) (90401736) | 新潟大学・医歯学総合病院・特任教授 (13101) | |
| 研究分担者 | 廣瀬 雄己 (Hirose Yuki) (10737365) | 新潟大学・医歯学総合病院・特任助教 (13101) | |

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|-------------------------------|------------------------------------|----|
| 研究協力者 | 茂木 大輔 (Motegi Daisuke) | 新潟大学・医歯学総合病院・医員 (13101) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| | |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|