

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901  
研究種目：挑戦的研究（萌芽）  
研究期間：2019～2020  
課題番号：19K22653  
研究課題名（和文）マルチオミクス解析による胃癌周術期化学療法の奏効度予測バイオマーカーの探索的研究  
  
研究課題名（英文）Multi-omics analysis to identify predictors for treatment efficacy of perioperative chemotherapy in advanced gastric cancer  
  
研究代表者  
小寺 泰弘（KODERA, Yasuhiro）  
  
名古屋大学・医学系研究科・教授  
  
研究者番号：10345879  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：Stage III胃癌に対する術前SOX療法の上乗せ効果を検証する第3相試験附随研究の pilot studyとして、マルチオミクス解析による化学療法効果予測バイオマーカーの同定を目的とした。術前化学療法を施行した症例から得た血漿検体を対象としてプロテオーム解析を実施し、有望な血漿効果予測バイオマーカー候補タンパク群を抽出した。同じ対象でmicroRNAアレイ解析を実施し、その血漿レベルが術前化学療法奏効度に相関するmicroRNA群を抽出した。治療前内視鏡的生検FFPE検体を対象に次世代シーケンサーを用いた遺伝子変異検査実施し、ゲノムデータが解析可能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

Stage III胃癌ではしばしば再発が見られ、さらなる治療開発の余地がある。S-1/オキサリプラチン併用療法（SOX療法）による術前補助化学療法を加えた周術期化学療法の優越性を検証するランダム化比較第III相試験が実施中であり、その結果は胃癌診療ガイドラインにも大きな影響を与えると予想される。術前補助化学療法の治療効果が事前に予測できれば、個々の患者に応じた最適な治療法選択が可能となり、医療経済の観点からも大きな意義がある。本研究の成果により候補バイオマーカー選定と、ゲノム解析の実施性確認が得られたことで、続く附随研究が確度高く実施できる。

研究成果の概要（英文）：As a pivotal clinical trial for development of treatment strategy for clinical stage III gastric cancer, a multicenter, randomized phase III clinical trial to confirm the superiority of addition of preoperative adjuvant chemotherapy with S-1 + oxaliplatin (SOX) over standard treatment is ongoing. If the efficacy of chemotherapy can be predicted before decision making of treatment, physicians can select the most appropriate treatment method for each patient, which will have great significance not only in terms of treatment effect but also in terms of medical economics. In this study, we performed a multi-omics analysis and identified candidate markers for the efficacy of preoperative SOX therapy in plasma samples (protein and microRNA). Moreover, we confirmed the feasibility of the Cancer Panel using endoscopic biopsy FFPE samples. The results of this study will greatly enhance the quality of a future biomarker study.

研究分野：消化器外科学

キーワード：胃癌 周術期 化学療法 マルチオミクス解析 バイオマーカー

## 1. 研究開始当初の背景

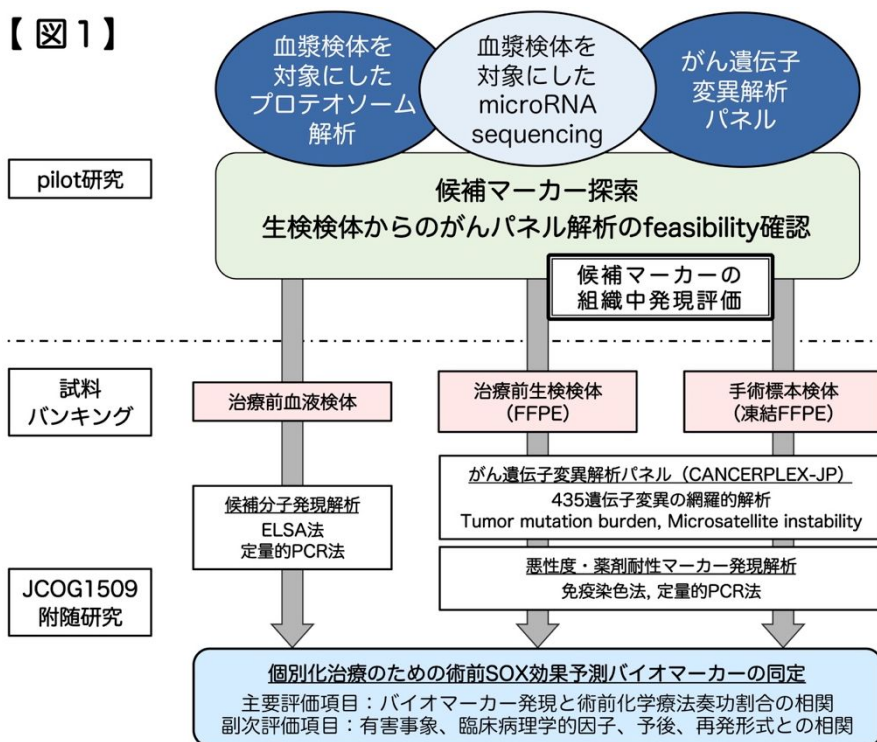
Stage II/III 胃癌に対する S-1 による術後補助化学療法の意義を検証した ACTS-GC 試験の結果、化学療法群で再発率の抑制と生存期間の延長がみられたものの、Stage III に限れば Stage IIIA、IIIB (胃癌取扱い規約第 13 版) で 5 年生存割合がそれぞれ 67%、50% と依然として予後不良であり更なる治療開発が求められている。術前化学療法は、(1) 術前に施行するため化学療法のコンプライアンスが良い、(2) 微小転移に対して早期から化学療法が行える、などの理由から、予後不良な進行胃癌に対して有効性が期待されているが、我が国で胃癌に対する術前化学療法の有効性を示す大規模臨床試験はない。その中で重要な試みとして、日本臨床腫瘍研究グループ(JCOG)によるランダム化比較第 III 相試験、JCOG1509 が進行中である。JCOG1509 は Stage III 胃癌に対する術前 S-1/オキサリプラチン併用療法 (SOX 療法) の上乘せ効果を検証する第 3 相試験であり、現在症例登録中 (予定登録患者数: 470 人) である。

胃癌に対する化学療法の効果予測因子を同定することは、個々人に応じたテーラーメイド治療を確立していく上で大きな意義があると考えられる。ゲフィチニブの有効性における EGFR 遺伝子変異、セツキシマブの効果予測因子としての KRAS 遺伝子変異などは既に臨床応用されている。胃癌においては、トラスツマブの有効性を予測する因子として HER2 の高発現や増幅が臨床応用されているが、これらの因子は限られた抗腫瘍薬に特異的な予測因子であり、多彩なレジメンへと拡大していくためには化学療法の新規の効果予測因子の同定が望まれる。

そこで JCOG で協議を重ね、主として術前 SOX 療法の効果予測バイオマーカー同定を目的とした JCOG1509 附

随研究を立案し、準備を進めている。図 1 のごとく本体研究に並行して試料のバンキングは開始されており、将来的に大規模前向き臨床試験から得られるデータと検体を用いた解析研究を実施するが、その意義を最大限とし胃癌診療を飛躍的に発展させるためには、血漿中タンパク/microRNA 解析における独自候補マーカーの選定と、生検検体での癌パネル解析の実施可能性を検討しておく必要がある。

【図 1】



## 2. 研究の目的

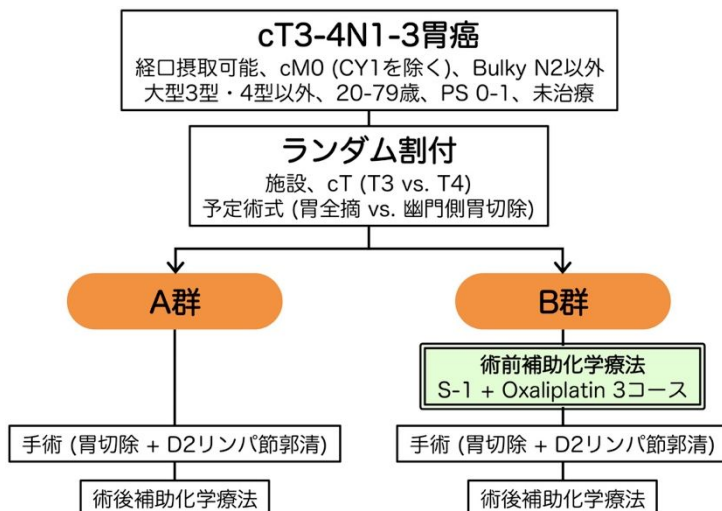
術後補助化学療法が標準化された現在でも、Stage III 胃癌ではしばしば再発が見られ、さらなる治療開発の余地がある。JCOG1509 は cStage III 胃癌 (Stage III と術前診断される胃癌) を対象に、術後補助化学療法を比較対照として、これに S-1/オキサリプラチン併用療法 (SOX 療法) による術前補助化学療法を加えた周術期化学療法の優越性を検証する試験である (図 2)。切除可能な進行胃癌に対して敢えて術前に化学療法を行う意義をわが国で初めて検証する臨床試験であり、胃癌診療ガイドラインにも大きな影響を与えると予想される。

一方、このような術前補助化学療法の効果が全ての対象症例において均一であるとは考えにくい。そこで治療効果が事前に予測できれば、個々の患者に応じた最適な治療法選択が可能となり、医療経済の観点からも大きな意義がある。そこで JCOG1509 の附随研究として主に術前 SOX 療法の効果予測因子を同定するためのバイオマーカー研究を提案した。本体研究登録症例を対象に附随研究のための試料収集・保管を開始した。附随研究では後述のごとく治療前血液検体を対象とした血漿中タンパク/microRNA の解析、主に術前生検組織 FFPE 検体を対象とした癌パネル解析、手術標本から得る凍結組織および FFPE 検体を対象に組織中タンパク/microRNA の解析を包括的に行うことで術前 SOX 療法の奏効度と相関する遺伝子学的バイオ

マーカーを同定する。この附随研究においては癌パネル解析の対象検体や、血漿中タンパクおよび microRNA 解析のバイオマーカー候補分子についての詳細が確定しておらず、万全の体制で附随研究を実施するためにこれらを事前に解決しておく必要がある。

本研究では、このバイオマーカー研究に向けての pilot 研究として、名古屋大学医学部附属病院で術前化学療法を施行した進行胃癌を対象に (1) JCOG1509 附随研究で解析対象とするバイオマーカー候補分子の同定のためのマルチオミクス解析を行うことと、(2) 術前生検検体からの癌パネル解析が実施可能かを確認することを目的とした。

【図2】



### 3. 研究の方法

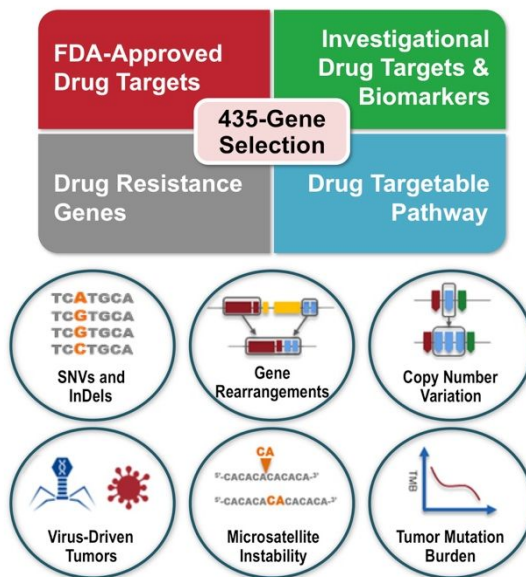
本研究では以下の計画に基づいて実施した。研究計画は将来の JCOG1509 附随研究をより意義深いものとするための pilot データを得ることに主眼を置いた。

**(1). 治療前血漿検体を対象にしたプロテオーム解析：**血液検体は非侵襲的かつ反復して採取可能であり、これを用いた治療前の効果予測バイオマーカーが同定されることが理想的である。JCOG1509 附随研究で解析対象とする血液中バイオマーカー候補タンパクを探索するため、名古屋大学医学部附属病院で術前 FU 系 + プラチナ系化学療法を施行した胃癌のうち、病理学的奏効度を基準に術前化学療法著効例 4 例と無効例 4 例から得た治療前の血漿検体を対象にプロテオーム解析 (iTRAQ 法での網羅的解析) を行い、マーカー候補タンパクを抽出した。

**(2). 治療前血漿検体を対象にした microRNA 解析：**microRNA は癌由来の異常を比較的安定的に循環血液中に反映するとされ、血液中バイオマーカー解析の標的に適している。(1)のプロテオーム解析と同じ対象から得た治療前血漿検体を用いて microRNA アレイ解析を行い、術前化学療法奏効度に相関する microRNA を抽出した。

**(3). 治療前内視鏡的生検 FFPE 検体を対象にしたゲノム解析：**画一的な癌治療から、患者個々の癌の性質に即した治療を選択する precision medicine への移行を目指して、癌の遺伝子異常を網羅的に評価するツールとして癌パネルが登場した。次世代シーケンサーを用いた遺伝子変異検査 CANCERPLEX (デンカ社) は、厳選された 435 遺伝子のゲノム情報を解析する癌パネルであり、マイクロサテライト不安定性や Tumor mutation burden も解析可能であり(図3) 本研究ではこれを用いた。患者固有の胃癌ゲノムの状態を評価するために理想的な検体は治療前内視鏡的生検によって得られる癌組織であるが、FFPE 保存による DNA 損傷や検体量不足が CANCERPLEX 実施において不利な要素となりうる。そこで、内視鏡下生検で得た胃癌組織の FFPE 検体を対象に CANCERPLEX の実施に適する DNA の抽出が可能であることを確認した。

【図3】



**(4). 手術標本凍結組織を用いた候補マーカーの組織中発現評価：**治療前の血漿を用いた術前化学療法の効果予測バイオマーカー探索(前述の(1)および(2))と同じ対象の切除胃癌組織中で、候補バイオマーカーの組織中発現度を免疫組織化学染色法や定量的 PCR 法で調べた。これにより、それらが腫瘍組織から発生しているかについての知見を得ることを目指した。

### 4. 研究成果

本体研究である JCOG1509 (Stage III 胃癌に対する術前 SOX 療法の上乗せ効果を検証する第 3 相試験) は症例登録を進めている。術前 SOX 療法の効果予測バイオマーカー同定を目的とした JCOG1509 附随研究に向けた試料のバンキングも順調に継続している。本研究の成果をもと

に、将来の試料解析研究について協議を進めている。

術前 FU 系 + プラチナ系化学療法を施行した症例から得た血漿検体を対象としてプロテオーム解析を実施した。病理学的奏効度を基準に術前化学療法著効例 4 例と無効例 4 例に群分けし、著効例で有意に血漿中レベルの高い、もしくは低いタンパクをリストアップした。文献的検討から妥当性を評価した。その課程から、8 つの有望な血漿効果予測バイオマーカー候補タンパクを抽出した。

同じ対象において、治療前血漿検体を用いて microRNA アレイ解析を実施した。その血漿レベルが術前化学療法奏効度に相関する microRNA を 4 つ抽出した。

治療前内視鏡的生検 FFPE 検体を対象にしたゲノム解析の実施性についても評価した。次世代シーケンサーを用いた遺伝子変異検査 CANCERPLEX (デンカ社) のプロトコルに沿って生検 FFPE 検体から DNA を抽出。品質チェックを経てシーケンスを実施した。50 検体を解析し、結果として内視鏡下生検で得た検体からもゲノムデータが解析可能であることが明らかとなった。

プロテオーム解析で同定した血漿バイオマーカー蛋白 8 つを対象に、切除胃癌組織中で、候補バイオマーカーの組織中発現度を免疫組織化学染色法や定量的 PCR 法で調べた。6 つで血漿中レベルと切除胃癌組織中発現量に相関性が認められ、血漿中のタンパクが腫瘍組織から発生していると考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	神田 光郎  (KANDA Mitsuro)  (00644668)	名古屋大学・医学系研究科・講師   (13901)	
研究分担者	小林 大介  (KOBAYASHI Daisuke)  (30635595)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師   (13901)	削除：2020年1月15日
研究分担者	田中 千恵  (TANAKA Chie)  (50589786)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師   (13901)	

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