

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460949

研究課題名(和文) プロテオミクス解析およびパスウェイ解析による新規胃癌バイオマーカーの検討

研究課題名(英文) Biomarker research for gastric cancer with proteomics and pathway analysis

研究代表者

高石 官均 (TAKAISHI, HIROMASA)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・准教授

研究者番号：80286468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では胃がんにもみられる遺伝子異常について網羅的に解析し、その生物学的特徴を解明するとともに薬効予測に有用な新規のバイオマーカーを探索することを目的として行った。胃がん細胞株を用いた実験の結果、CD44v8-10の発現とsulfasarazineの感受性の間に相関を認めた。さらに胃がん患者さんからの組織を用いた解析を追加し、HER2陽性胃癌に対する抗HER2抗体であるtrastuzumabの感受性に関連するバイオマーカーの探索を行い、現在解析中である。

研究成果の概要(英文)：We tried to elucidate unknown biological characteristics in gastric cancer, and explore novel biomarker to predict drug sensitivity through the comprehensive genetic and biological analyses.

We found correlation between expression level of CD44v8-10 and sensitivity of sulfasarazine in cell lines of gastric cancer. We currently analyze biomarkers to predict efficacy of trastuzumab, anti-HER2 antibody, in patients with HER2 positive gastric cancer.

研究分野：消化器腫瘍

キーワード：胃癌 バイオマーカー sulfasaradine HER2

1. 研究開始当初の背景

消化器癌はわが国の癌死の半分以上を占める主要な原因のひとつであり、その死因の大半は転移、浸潤によるものである。消化器癌の発生に関わる初期の因子、進行に関与する因子、化学療法抵抗性因子を同定することが非常に重要である。近年大腸癌における抗 EGFR 抗体薬、VEGF 中和抗体、進行胃癌における抗 HER2 抗体薬などの新規分子標的治療薬の開発・応用の進歩により、治療成績は劇的な改善を認めているなど個別化治療を確立する上でがんの個性診断が必要となる。FDA (アメリカ食品医薬品局) により早期に治療薬として承認されるいわゆる breakthrough drug の主なものは最近では抗悪性腫瘍薬、特に分子標的薬である。悪性黒色腫に対する vemurafenib、非小細胞肺癌に対する crizotinib が例としてあげられる。一部の新規分子標的薬を除いて、まだ治療効果は十分ではなくますます治療の開発が望まれている。

切除不能・再発胃癌の治療成績は徐々に改善はされてきているもののその成績は十分とはいえないのが現状である。HER2 発現が亢進している HER2 陽性胃癌に対する抗 HER2 抗体である Trastuzumab の有効性が示され、胃癌診療において HER2 発現が臨床的に意義のあるバイオマーカーとして確立している。しかし、それ以降の胃癌における分子標的薬の開発はうまくいっておらず、さらなる胃癌の病態解明、新規薬剤・バイオマーカー探索が必要とされている。

研究開始当初は抗 HER2 抗体が唯一の胃癌において有効性が示された分子標的薬であった。近年 Cancer Genome Project (CGP)、Cancer Genome Atlas、International Cancer Genome Consortium など網羅的遺伝子解析が盛んに行われており、胃癌の遺伝子変異に基づいた分類や新規治療標的となりうる遺伝子異常に関して研究が進められている。新規治療標的・バイオマーカー探索への応用が期待される。

2. 研究の目的

- (1) 本研究では胃がんにもみられる遺伝子異常について網羅的に解析し、その生物学的特徴を解明するとともに薬効予測に有用な新規のバイオマーカーを探索する。
- (2) HER2 陽性胃癌における抗 HER2 抗体である Trastuzumab の耐性因子を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) 既存の胃癌細胞株 (SNU-16、AGS、SNU-5、NCI-N87、KATO-III、Hs746T) における遺伝子プロファイルの検索をおこなった。

がん細胞に発現する CD44v8-10 は cystine transporter (xCT) の安定化に寄与することで酸化ストレスに抵抗性の性質を獲得していることが明らかにされている。胃癌細胞株の遺伝子プロファイルを参考にし、CD44v8-10 の発現確認と、xCT 阻害剤としての sulfasalazine (SSZ) に対する感受性の比較を行った。

in vitro での感受性は各々の細胞に対して SSZ に暴露したのちの viability を比較して行った。あわせて Western blotting にて CD44v8-10 の発現比較を行い、感受性との関連も検討した。

in vivo での感受性は各々の細胞を移植した担癌マウスに対して SSZ の腹腔投与を行い、その腫瘍径について観察、比較を行った。

最終的に in vitro および in vivo の感受性の違い、各細胞株の遺伝子プロファイルや CD44v8-10 発現レベルと SSZ 感受性の関連について検討をおこなった。

- (2) 西日本がん研究機構により実施中の「フッ化ピリミジン系薬剤、プラチナ系薬剤、trastuzumab に応えなかった進行・再発 HER2 陽性胃癌・食道胃接合部癌に対する weekly paclitaxel + trastuzumab 併用療法 vs. weekly paclitaxel 療法のランダム化第 II 相試験 (T-ACT 試験)」において、trastuzumab を含む一次治療不応後に trastuzumab を継続使用する際の効果予測因子を検討するためのバイオマーカー研究を計画し、初回治療前の診断時の組織、および一次治療が不応となった後に採取された組織検体を収集した。

本研究の前研究となる S-1 + CDDP + trastuzumab 療法における trastuzumab 効果予測に関するバイオマーカー研究において、Neuregulin 1 (NRG1) の発現が治療効果と有意な相関を認めた。本研究では患者腫瘍組織における NRG1 の発現と trastuzumab を不応後も使用し続ける意義 (trastuzumab beyond PD: TBP) の関連を検証する。また、NRG1 は HER3 のリガンドであることからあわせて HER3 の発現も検討する。一次治療不応後の組織が回収できた症例では HER2 発現を含めた治療中の変化について解析を行う。

4. 研究成果

- (1) 当院における胃癌手術検体の入手件数が限られており、LC-MS/MS やショットガン解析、免疫染色、selective reaction monitoring 定量アッセイなどの手法を用いて解析を行うのに十分な症例数を本研究期間内に収集することが困難であった。今後症例をさらに集積し検討を進めた

いと考えている。

SNU-16、AGS、SNU-5、NCI-N87、KATO-III、Hs746Tの7種について遺伝子プロファイルの検索を行い、NCI-N87(HER2 陽性)、Hs746T(MET 陽性)、KATO-III(FGFR2 陽性)を抽出した。Western blottingにてCD44v8-10の発現比較を行い、Hs746Tで高発現、NCI-N87で弱発現、KATO-IIIで発現を認めないことがわかった。各細胞株における*in vitro*でのsulfasarazine投与後の*viability*の比較をおこなった。CD44v高発現株であるHs746Tで高い感受性を示した。CD44v弱発現株であるNCI-N87では、ほとんど感受性を示さなかった。(2)各細胞株における*in vivo*でのsulfasarazineに対する感受性を評価するため、各細胞を移植した担癌マウスに対しsulfasarazineの腹腔投与を行い、その腫瘍径の変化を測定し抗腫瘍効果を評価した。*in vitro*の結果と異なり、Hs746Tでは感受性をほぼ認めず、一方でNCI-N87では高い感受性を示した。

*in vitro*と*in vivo*でのsulfasarazineに対する感受性が一致しない結果となっており、そのメカニズムを解明する必要がある。本薬剤の腫瘍およびその環境因子に与える影響についてさらに検討を行う予定である。NCI-N87(HER2 陽性)に対する治療薬Lapatinib、Hs746T(MET 陽性)に対するCrizotinib、KATO-III(FGFR2 陽性)に対するPD173074とのsulfasarazineの相乗効果を調べていく。さらに胃癌の既知のdriver geneとして考えられているTP53、ARID1A、CDH1、MUC6、CTNNA2、GLI3、RNF43についても検討していく予定である。

- (3) T-ACT試験は国内53施設が参加して行われたランダム化第II相試験であり2016年10月に予定症例数である91例の登録が終了し追跡期間となっている。その付随研究には32施設75症例が登録された。本研究のために診断時の組織および二次治療(本試験治療)開始前の組織を収集し、HER2の免疫染色における発現の変化およびFISHにおける遺伝子増幅の変化を測定する。さらに、前研究でHER2陽性胃癌におけるTrastuzumabの感受性予測因子としてNRG1が同定されており¹⁾、NRG1およびその受容体であるHER3の発現も測定し、Trastuzumab耐性との関連を検討する。現在、順次組織収集し解析を進め、臨床効果との関連に関する検討を進めている。

本研究の結果、trastuzumabの二次治療以降での使用意義が示され、さらにバイオマーカー研究より、適切なTrastuzumabの効果予測が可能になるこ

とで、さらなる胃癌の治療成績の向上が期待される。

(4)

引用文献

1) Miura Y, Sukawa Y(corresponding author), et al. Five-weekly S-1 plus cisplatin therapy combined with trastuzumab therapy in HER2-positive gastric cancer: a phase II trial and biomarker study (WJOG7212G). Gastric cancer. 2017

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0件)

[学会発表](計 1件)

Taito Esaki, Yasutaka Sukawa, etc. T-ACT (WJOG7112G): A randomized phase II study of weekly paclitaxel ± trastuzumab in patients with HER2-positive advanced gastric or gastro-esophageal junction cancer refractory to trastuzumab combined with fluoropyrimidine and platinum. ASCO 2017 Gastrointestinal Cancers Symposium. Jan. 19, 2017. San Francisco.

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

6. 研究組織

(1)研究代表者

高石 官均 (TAKAISHI, Hiromasa)

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号: 80286468

(2)研究分担者

船越 信介 (FUNAKOSHI, Shinsuke)
济生会中央病院・腫瘍内科・医長
研究者番号： 20297352

須河 恭敬 (SUKAWA, Yasutaka)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号： 80772566

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
()