

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10600

研究課題名(和文)食道胃接合部腺癌における個別化治療を目的としたバイオマーカー解析

研究課題名(英文) Biomarker analysis for personalized treatment of esophagogastric junction adenocarcinoma

研究代表者

佐藤 勉 (Sato, Tsutomu)

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・准教授

研究者番号：50457850

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：術後補助化学療法(S-1)を施行されたStage II/III胃癌患者の切除検体を用いて定量PCR法を行い、SPARC、TNS4、INHBA、GGH、PDGF-、KIAA1199、ESM-1の高発およびFPGS低発現が予後規定因子であることを明らかとした。胃癌の癌幹細胞・治療抵抗性マーカーとしてBTST2、IQGAP3、PCDHB9を同定し、胃癌臨床検体を用いて各遺伝子高発現群が予後規定因子であることを明らかとした。今後の展望として、胃癌とAEGのTissue Microarrayを用いて上記のバイオマーカーに加えて、胃癌の癌幹細胞マーカーの遺伝子発現解析が現在進行中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国を含めたアジア諸国で増加しつつある食道胃接合部腺癌(Adenocarcinoma of the esophagogastric junction; AEG)の標準治療は胃癌に準じて行われている。AEGは胃癌に比べ予後不良と考えられており、AEGの治療に胃癌の治療戦略をそのまま外挿して良いのかは不明な点が多い。本研究で明らかとなった局所進行胃癌におけるバイオマーカーがAEGにおいても臨床的意義があることが明らかになることにより、今後のAEGの治療開発の一助になることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Quantitative PCR was performed using the resected specimens of patients with stage II/III gastric cancer who received postoperative adjuvant chemotherapy (S-1). High SPARC, TNS4, INHBA, GGH, PDGF-, KIAA1199, ESM-1 expression, and low FPGS expression were useful independent prognostic factors. We also identified BTST2, IQGAP3, PCDHB9 as markers for cancer stem cells and treatment resistance in gastric cancer. Overexpression of each gene was a prognostic factor in gastric cancer patients. As a prospect, in addition to the above biomarkers using tissue microarray of gastric cancer and AEG, gene expression analysis of cancer stem cell markers is currently in progress.

研究分野：上部消化管外科

キーワード：胃癌 食道胃接合部癌 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

我が国を含めたアジア諸国において、胃癌と食道胃接合部腺癌(Adenocarcinoma of the esophagogastric junction; AEG)では、胃癌が大多数を占め、AEG は比較的稀な疾患であったが、近年、我が国でも欧米に数十年遅れて *Helicobacter pylori* (HP) 感染症の低下から胃癌が減少し始め、AEG が増加しつつある。

AEG は胃癌と比べて予後不良であり、欧米諸国では早くから補助化学療法や化学放射線療法の有効性を検証する臨床試験が数多く実施されてきた。一方、我が国では、AEG は稀少疾患であったが故、AEG に対する独自の治療開発はなく、その多くの症例が、胃癌に対する標準治療に準じ、リンパ節郭清を伴う根治切除術+術後補助化学療法であった。また、StageIII 胃癌の治療成績は、根治切除術+S-1単剤による術後補助化学療法では未だ不十分であったことから、術後補助療法の強化や術前補助化学療法の開発が東アジアを中心に現在進行中であった。さらに胃癌の分子標的製剤のグローバル第Ⅲ相試験が多数進行中であり、HER2 陽性胃癌に対する抗HER2 モノクローナル抗体のトラスツズマブと進行再発胃癌に対する二次治療として血管新生阻害薬(抗 VEGFR2 抗体薬:ラムシルマブ)の有効性が明らかとなった一方、それまで有望視されていた EGFR、MET、VEGFA 阻害薬は、有効性を示すことができなかった。

われわれは、これまでに、局所進行胃癌に対する再発リスク因子、予後予測因子、および補助化学療法の効果予測因子などのバイオマーカー検索を進め、報告してきた。そこで本研究では、これらの局所進行胃癌におけるバイオマーカー検索をさらに進め、AEG においても臨床的意義があるのかを検証し、最終的にはこれらの応用によって AEG の治療効果を向上させることに着想した。さらに、癌の進展・転移および、薬物抵抗性およびに關与することが報告されている癌幹細胞について、複数の癌幹細胞マーカーの発現解析を行い、治療に關わるバイオマーカーとしての有用性を明らかにし、これを臨床応用することで AEG の治療成績の向上させることに着想した。

2. 研究の目的

AEG は胃癌と比べて予後不良であり、欧米諸国では早くから補助化学療法や化学放射線療法の有効性を検証する臨床試験が数多く実施されてきた。AEG と胃癌の様々なバイオマーカーを比較した論文は少ない。本研究では、胃癌におけるバイオマーカー検索と同様の手法で、AEG の根治切除後における再発リスク因子、予後予測因子、および補助化学療法の効果予測因子などのバイオマーカー検索を行い、また、複数の癌幹細胞マーカーの発現解析を行い、胃癌と AEG での発現を明らかにし、バイオマーカーとしての有用性を明らかにする。さらに、現在胃癌で治療開発の進められている分子標的薬のターゲットとなる可能性のあるバイオマーカー（HER2、EGFR、VEGFR2、cMET）や TCGA プロジェクトにより、4つのサブタイプに分類するために用いられるバイオマーカー（PD-L1, MMR, EBV, TP53 など）の発現について検討を行う。それに加えて、われわれが胃癌切除検体から予後や治療効果に関わる遺伝子発現を検索し、臨床上有望なバイオマーカーも同時に AEG と胃癌での発現の差異を明らかとする。また、胃癌に対する癌幹細胞マーカーとして報告されている ADLH1、CD44、CD133 などの発現解析を行い、AEG における臨床的有用性を検討する。

3. 研究の方法

1) 胃癌のバイオマーカー解析

胃癌切除検体から癌組織および隣接する正常組織を採取した。凍結組織をクライオスタットで薄切し、癌細胞の占める割合が 80% 以上のもののみを癌組織と定義し、癌組織から mRNA を抽出して、DNA マイクロアレイを用いた発現解析などからあらかじめ選択した 127 遺伝子の発現量を定量 PCR 法にて計測し、各遺伝子発現と臨床病理学的因子、術後補助化学療法との関係、再発・予後との関係を解析する。

2) 癌幹細胞に関連するマーカーの発現解析および臨床データとの検討

癌幹細胞マーカーである , CD44v, LGR5, FEZ7, TROY, MS11, CD133, CD24, DLL4, GINS3, ALDH1A1, TAP1, GINS4, DCAMKL1 の mRNA およびタンパク発現を , 定量 PCR 法と tissue microarray を用いた免疫染色を用いて行い , 臨床病理学的因子および抗癌剤への感受性および生存との関連について検討する。

4 . 研究成果

1) S-1 による術後補助化学療法を施行された Stage II/III 胃癌患者 134 例の検討において、RT-qPCR を用いて、胃癌術後補助化学療法 S-1 に対する治療抵抗性や予後不良因子の解析を行った。 -アクチンとの相対的発現量を中央値で 2 群に分類して予後との関連を調べると、SPARC 高発現、TNS4 高発現、Inhibin A (INHBA) 高発現、gamma-glutamyl hydrolase(GGH)高発現、folylpolyglutamate synthetase(FPGS)低発現、platelet-derived growth factor receptor(PDGF)- β 高発現、KIAA1199 高発現、ESM-1 高発現が予後危険因子であることが分かった。また、PRKCI 高発現群で overall survival が有意に低下しており、が胃癌の予後規定因子であることが判明している。

2) 5-FU 耐性株では発現が低下する遺伝子として BST2(Bone marrow stem cell antigen 2)を同定し、食道癌および胃癌患者臨床検体を用いて予後の検討を行った。胃癌患者 180 例中 65 例 (36%) で BST2 高発現を認め、予後規定因子であることが分かった。また同様に食道癌 132 例においても BST2 高発現が予後危険因子と判明した。

Spheroid biology を用いた解析において癌幹細胞マーカーとして同定した IQGAP3 について、胃癌 165 例の臨床検体を用いて検討を行った。34 例 (21%) が高発現であり、Stage I に比べて Stage II 以上の症例で高発現していた。多変量解析で IQGAP3 高発現が独立した予後危険因子 (HR:3.49 : 1.89-6.46, P=0.00002) であることが判明した。

カルシウム依存性細胞接着分子である PCDHB9 (Protocadherin beta-9)が胃癌細胞株においてがん組織に特異的に発現する遺伝子であることを同定した。胃癌臨床検体 248 例を RT-qPCR で解析を行い、PCDHB9 が intestinal type で高発現しており、PCDHB9 高発現群で有

意に予後不良であった ($p=0.0032$)。

3) 課題と今後の展望

胃癌および食道胃接合部癌の Tissue Microarray 作成および関連する予後・再発を含む臨床病理学的データベースの作成は完了している。研究成果 1) および 2) で明らかとしたバイオマーカーに加えて、胃癌の原発巣と転移巣における癌幹細胞マーカーとされる ADLH1、CD44、CD133 や Kinesin 遺伝子群 (KIFC1、KIF11、KIF23) を含む新規の癌幹細胞マーカーを含めた遺伝子発現解析が現在進行中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kano K, Sakamaki K, Oue N, Kimura Y, Hashimoto I, Hara K, Maezawa Y, Aoyama T, Fujikawa H, Hiroshima Y, Yamada T, Tamagawa H, Yamamoto N, Ogata T, Cho H, Ito H, Shiozawa M, Yukawa N, Yoshikawa T, Morinaga S, Rino Y, Yasui W, Masuda M, Miyagi Y, Oshima T.	4. 巻 34
2. 論文標題 Impact of the ESM-1 Gene Expression on Outcomes in Stage II/III Gastric Cancer Patients Who Received Adjuvant S-1 Chemotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 In vivo	6. 最初と最後の頁 461-467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/invivo.11796.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Oneyama M, Sakamoto N, Oue N, Kimura Y, Hiroshima Y, Hashimoto I, Hara K, Maezawa Y, Kano K, Aoyama T, Fujikawa H, Yamada T, Tamagawa H, Yamamoto N, Ogata T, Cho H, Ito H, Yukawa N, Shiozawa M, Yoshikawa T, Morinaga S, Rino Y, Masuda M, Miyagi Y, Yasui W, Oshima T.	4. 巻 39
2. 論文標題 Clinical Significance of KIAA1199 as a Novel Target for Gastric Cancer Drug Therapy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 6567-6573
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticanres.13872.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto I, Sakamaki K, Oue N, Kimura Y, Hiroshima Y, Hara K, Maezawa Y, Kano K, Aoyama T, Yamada T, Yamamoto N, Ogata T, Ito H, Shiozawa M, Morinaga S, Rino Y, Yasui W, Masuda M, Miyagi Y, Oshima T	4. 巻 39
2. 論文標題 Clinical Significance of PRKCI Gene Expression in Cancerous Tissue in Patients With Gastric Cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 5715-5720
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticanres.13771	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oue N, Yamamoto Y, Oshima T, Asai R, Ishikawa A, Uraoka N, Sakamoto N, Sentani K, Yasui	4. 巻 85
2. 論文標題 Overexpression of the Transmembrane Protein IQGAP3 Is Associated with Poor Survival of Patients with Gastric Cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 W.Pathobiology.	6. 最初と最後の頁 192-200
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000481890.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Y, Oshima T, Yoshihara K, Sakamaki K, Aoyama T, Cho H, Shiozawa M, Yoshikawa T, Rino Y, Imada T, Masuda M	4. 巻 15
2. 論文標題 Clinical significance of secreted protein, acidic and cysteine-rich gene expression in patients with stage II/III gastric cancer following curative resection and adjuvant chemotherapy with S-1.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncol Lett	6. 最初と最後の頁 7335-7343
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2018.8248	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mukai S, Oue N, Oshima T, Imai T, Sekino Y, Honma R, Sakamoto N, Sentani K, Kuniyasu H, Egi H, Tanabe K, Yoshida K, Ohdan H, Yasui W	4. 巻 243
2. 論文標題 Overexpression of PCDHB9 promotes peritoneal metastasis and correlates with poor prognosis in patients with gastric cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 W.J Pathol.	6. 最初と最後の頁 100-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.4931.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sawazaki S, Oshima T, Sakamaki K, Aoyama T, Sato T, Shiozawa M, Yoshikawa T, Rino Y, Imada T, Masuda M	4. 巻 31
2. 論文標題 Clinical Significance of Tensin 4 Gene Expression in Patients with Gastric Cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 In vivo	6. 最初と最後の頁 1065-10711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.11171	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Higuchi A, Oshima T, Yoshihara K, Sakamaki K, Aoyama T, Suganuma N, Yamamoto N, Sato T, Cho H, Shiozawa M, Yoshikawa T, Rino Y, Kunisaki C, Imada T, Masuda M	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical significance of platelet-derived growth factor receptor- gene expression in stage II/III gastric cancer with S-1 adjuvant chemotherapy.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncol Lett.	6. 最初と最後の頁 905-911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2016.5494.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Katayama Y, Oshima T, Sakamaki K, Aoyama T, Sato T, Masudo K, Shiozawa M, Yoshikawa T, Rino Y, Imada T, Masuda M	4. 巻 31
2. 論文標題 Clinical Significance of INHBA Gene Expression in Patients with Gastric Cancer who Receive Curative Resection Followed by Adjuvant S-1 Chemotherapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 In vivo	6. 最初と最後の頁 565-571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.11095	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mukai S, Oue N, Oshima T, Mukai R, Tatsumoto Y, Sakamoto N, Sentani K, Tanabe K, Egi H, Hinoi T, Ohdan H, Yasui W.	4. 巻 24
2. 論文標題 Overexpression of Transmembrane Protein BST2 is Associated with Poor Survival of Patients with Esophageal, Gastric, or Colorectal Cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol.	6. 最初と最後の頁 594-602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-016-5100-z.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大島 貴
2. 発表標題 胃癌周術期治療Up to Date 局所進行胃癌に対するバイオマーカーを用いた術前・術後補助化学療法の個別化治療
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神尾一樹、大島貴
2. 発表標題 根治的胃切除術とS-1補助化学療法を受けたStage II/III胃癌におけるESM-1発現の臨床的意義
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大島 貴
2. 発表標題 個別化治療を目指したStage II/III胃癌根治切除後の予後層別化マーカー検索
3. 学会等名 第56回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大島 貴
2. 発表標題 Search for predictive biomarkers of response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced gastric cancer
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大上直秀、大島 貴
2. 発表標題 Protocadherin B9 is associated with peritoneal dissemination in human gastric cancer
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大島 貴
2. 発表標題 A biomarker analysis to predict the outcomes of patients with gastric cancer who received NAC
3. 学会等名 第90回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 勉
2. 発表標題 食道胃接合部腺癌におけるHER2発現割合
3. 学会等名 第79回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木喜裕、大島 貴
2. 発表標題 S-1による術後補助化学療法を施行したStage II/IIIの胃癌患者におけるSPARC遺伝子の発現の臨床的意義
3. 学会等名 第72回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大島 貴
2. 発表標題 個別化治療を目指したStageII/III胃癌根治切除後の再発リスク層別化マーカーの検索
3. 学会等名 第72回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 片山雄介、大島 貴
2. 発表標題 S-1補助療法を施行したstage II/III胃癌根治切除症例におけるINHBA発現のバイオマーカーとしての有用性の検討
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 樋口晃生、大島 貴
2. 発表標題 Stage II/III胃癌根治切除+S-1補助化学療法投与症例におけるPlatelet derived Growth Factor Receptor-beta(PDGFR-beta)遺伝子発現の臨床的意義
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 澤崎 翔、大島 貴
2. 発表標題 Stage II/III胃癌におけるTNS4発現の臨床的意義
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田村周三、大島 貴
2. 発表標題 胃癌におけるKIAA1199のbiomarkerおよび新規targetとしての有用性
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017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	大島 貴 (Oshima Takashi) (10448665)	地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター(臨床研究所)・その他部局等・部長 (82713)	

6. 研究組織（つづき）

	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	吉川 貴己 (Yoshikawa Takaki) (30336573)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・科長 (82606)	