

令和元年6月24日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16560

研究課題名(和文) ゲノム不安定性とEGFR発現解析に基づいた胃癌の新しい治療戦略

研究課題名(英文) New therapeutic strategy based on the microsatellite instability and EGFR expression.

研究代表者

津田 康雄 (TSUDA, yasuo)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：90747354

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：当科で1994年～2013年に胃切除を施行した284人の患者の同意のもとに、MSI解析を行い、26人(9.2%)の患者がMSI-Hと診断された。MSI-H胃癌では有意にEGFRの高発現を認めた。EGFR高発現は予後不良因子であるが、MSS胃癌とMSI胃癌ではEGFRの高発現の予後に異なる傾向が認められた。また、大腸癌で報告されたEGFR 3'-UTRのA13リピートを調べたところ、MSI胃癌では有意に1-2塩基の欠損を認めたものの、MSI胃癌では認めなかったことから、A13リピートがバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌は近年5つのサブタイプに分類されると報告されており、MSIはその一つであることから生物学的に重要な分野であるとともに、近年注目されている免疫チェックポイント阻害剤のターゲットとしてMSI悪性腫瘍は今後研究の発展が必要とされている。

今回我々の研究により、これまで予後不良因子とされていたEGFR高発現がMSI胃癌では異なる生物学的意義を持つ可能性が示唆された。

さらに、EGFR A13リピートはMSI胃癌で高率に塩基欠損を示していたことから、バイオマーカーの開発が求められているMSI腫瘍の治療において新たなマーカーの候補となりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In our study, MSI gastric cancer was observed in 26 of 284 patients(17.7%). In MSI gastric cancer, the expression of EGFR was significantly higher than MSS gastric cancer. Moreover, the over-expression of EGFR, known as poor prognostic factor, behaved different between MSS and MSI gastric cancer.

研究分野：消化器外科

キーワード：胃癌 マイクロサテライト不安定性 EGFR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

日本において、胃癌は悪性腫瘍の中でも死亡原因の上位の疾患であり、胃癌の克服は癌の治療を行う上で重要な課題である。近年、検診の普及や治療法の発展などから早期胃癌に対する治療成績は向上しているものの、進行胃癌は未だに予後不良であり、Stage a以上の胃癌患者で根治的外科手術を施行したとしても、1-2年以内にその約60%以上の患者で局所再発、あるいは遠隔転移を起こすと報告されている。

胃癌の予後が大腸癌などと比較し比較的不良な原因としては他にも、化学療法の感受性が低いことや栄養状態や全身状態が損なわれやすいという胃癌特有の病態に加え、分子標的治療の確立が肺癌、大腸癌、乳癌などと比較し遅れていることも考えられる。しかし、がんゲノムアトラス (TCGA) は、最近の報告で胃癌を4つの異なる molecular subtype に分類できるとしており、胃癌の各 subtype ごとの治療法の確立が胃癌の予後向上につながると期待されている。

Adam J Bass et al. *Nature*, 2014

上記 subtype の一つとしてマイクロサテライト不安定性 MSI (Microsatellite instability) があげられており、現在までも MSI に関する報告はなされているが、まだその治療法の確立には至っていない。当科においてもこうした個別化治療へとむけた研究を行ってきており、これまでに MSI の発癌メカニズムや臨床病理学的特徴像だけでなく、MSI status と化学療法の感受性の関係などについても研究を行ってきた。

Okie E et al. *Ann Surg Oncol*, 2009

Ando K et al. *Cancer Science*, 2010

一方で、胃癌に対する分子標的治療が他の癌の比較して遅れていると上記で述べた通り、ガイドラインで認められている分子標的薬は Trastuzumab 唯一であり、ヒト上皮成長因子受容体 2 (HER2) に続くバイオマーカーは未だない。新たなターゲットとして注目されている候補の一つに EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) が挙げられる。EGFR は Her2 と同様に ErbB ファミリーと呼ばれるチロシンキナーゼ型受容体の一つであり、主に細胞成長や抗アポトーシス、浸潤、遊走に関与するとされている。

Bang YJ et al. *Lancet*, 2010

さらに、EGFR は種々の癌において過剰発現が報告されており、EGFR 過剰発現した悪性腫瘍は予後不良であり、またホルモン療法、化学療法、放射線療法において耐性を示すことが報告されている。胃癌の約 27~55% で EGFR 過剰発現がみられ、陰性群と比較して予後不良であり、再発率も 10% 程度高いと報告されている。

Kim MA et al. *Histopathology*, 2008

そのため、EGFR は分子標的薬ターゲットとして注目され、肺癌、大腸癌では既に抗 EGFR 阻害剤が化学療法として承認されており、現在胃癌においても第 Ⅲ 相試験が行われている。しかしながら、全ての EGFR 陽性腫瘍に抗 EGFR 阻害剤が効果を示すわけではなく、特定の遺伝子変異によっては耐性を獲得することも報告されていることから、どのような患者が抗 EGFR 治療による benefit を受けられるかというバイオマーカー解析は非常に重要である。

### 2. 研究の目的

マイクロサテライト不安定性 (MSI) は発癌メカニズムの一つと考えられており、大腸癌、胃癌でも報告されている。一方 EGFR は胃癌における高発現は予後不良とされている。近年 MSI 胃癌では MSS 胃癌よりも EGFR 高発現症例が多いと報告されているが、その臨床病理学的特徴、治療戦略はまだ明らかになっていない。本研究では、MSI 胃癌における EGFR 高発現に着目し、そのメカニズムを明らかにすることで、新たな治療戦略を開発する。

### 3. 研究の方法

MSI 胃癌における過剰発現のメカニズムを明らかにし、さらに抗 EGFR 阻害剤に対する感受性を検討する。

MSI 胃癌と EGFR 発現の解析

MSI 胃癌における EGFR 3' -UTR の A13 リピート欠損の検討

細胞株における A13 リピート欠損と抗 EGFR 阻害剤感受性に関する検討

➡以上3点について研究を行い、MSI 胃癌における EGFR 過剰発現のメカニズム、及びその治療法について検討する。

### 4. 研究成果

MSI 胃癌と EGFR 発現の関係

#### 1. マイクロサテライト不安定性 (MSI) の解析

MSI はミスマッチ修復機構の異常により、DNA 複製の際に生じたエラーが修復されない病態である。そのため、ゲノム中の繰り返し配列をもつ部分をマーカーとして 5 つモニタリングし、2 つ以上のマーカーで繰り返し回数の異常を認められた場合に MSI-H として診断する。

正常ならば MSS、1 つのみの異常であれば MSI-L として診断する。

当科で 1994 年 ~ 2013 年に胃切除を施行した 284 人の患者の同意のもとに、MSI 解析を行い、26 人 (9.2%) の患者が MSI-H と診断された。

#### 2. 胃癌切除標本での EGFR 発現解析

当科で胃切除を施行した上記 284 例に対して免疫組織学的染色法によって発現解析を行う。抗

体はDako社のEGFR pharmDx Kit for ManualUseを使用した。既にある判定基準に従って染色強度を判定し、EGFR発現状況を解析した。

MSI-H胃癌では有意にEGFRが高発現しており、EGFR高発現胃癌は予後不良ではあるものの、その予後はMSS群とMSI-H群で異なる傾向が認められた。

#### MSI胃癌におけるEGFR 3'-UTRのA13リピート欠損の検討

近年、MSI大腸癌ではEGFRの3'-非翻訳領域(UTR)におけるpolyA(13塩基)リピートの欠損がEGFRの過剰発現に関わると報告されており、バイオマーカー候補として注目されている。これによると、MSI癌部ではEGFR 3'-UTRのA13リピートで1~2塩基の欠損が多く生じており、A11,A12を含むmRNAはA13を含むmRNAよりも安定していることが報告されているが、胃癌におけるタンパク質レベルでのEGFR過剰発現との相関は未だに示されていない。

本研究では、このEGFR 3'-UTR polyAリピートの欠損に注目しMSI胃癌における、EGFR発現のメカニズムを明らかにし、さらにEGFR過剰発現胃癌のバイオマーカーとなりうるか検証した。上記で検討したMSI胃癌症例26例の癌部、非癌部のDNAを抽出し、EGFR 3'-UTR A13リピートを含むゲノム配列をダイレクトシーケンス法にて検討し、A13リピートの塩基欠損とEGFR過剰発現の関係を検討した。

MSI胃癌でEGFR高発現症例ではA13リピートの欠損が癌部で1塩基~2塩基認められた。

MSI胃癌は有意にEGFRを高発現しており、その生物学的意義においてはMSS胃癌とは異なる可能性が示された。また、MSI胃癌かつEGFR高発現のマーカーにA13リピートがなりうる可能性が示された。

#### 5. 主な発表論文等

現在執筆中

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔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:

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:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究分担者

研究分担者氏名:津田 康雄

ローマ字氏名:Tsuda Yasuo

所属研究機関名:九州大学大学院

部局名:消化器・総合外科

職名:医員

研究者番号 ( 8 桁 ): 90747354

(2)研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。