

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15330

研究課題名(和文) Stage II/III胃癌に対するTS-1術後補助化学療法とMSI/dMMR

研究課題名(英文) Effect of S-1 adjuvant therapy on stage II/III gastric cancer with MSI-H/dMMR tumor.

研究代表者

川上 尚人 (KAWAKAMI, Hisato)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：10580615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：S-1にて術後補助化学療法を受けたstage II胃癌検体209例を集め解析を行った。209例のうち、185サンプル(88.5%)でMSIステータスが評価可能であり、24サンプル(13%)でMSI-Hが確認された。無再発生存期間(RFS) [HR, 1.00; p = 0.997]および全生存期間(OS) [HR, 0.66; p = 0.488]において、MSI-HとMSSの間には有意な差はなかったが、MSI-H GCは、傾向スコアで患者の背景を調整した後、MSSよりもRFS [HR, 0.34; p = 0.064]およびOS [HR, 0.22; p = 0.057]が大幅に改善した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

MSI/dMMRがTS-1胃癌術後補助化学療法に与える影響についての検討はこれまでにない。また遺伝子発現によって見出された「MSI like」と真のMSIとの違いを検討した研究は他になく、学術的独自性がある。米国ではMSI/dMMRに対する抗PD-1抗体の投与がFDAによって承認されており、MSI/dMMRは胃癌における抗PD-1抗体の効果予測マーカーの候補と考えられている。MSS/pMMRの中にMSI/dMMRと類似した免疫環境の腫瘍が存在する可能性があり、これが「MSI like」である可能性を考えている。これらは免疫チェックポイント阻害剤の応用が期待でき、創造性がある。

研究成果の概要(英文)：We collected and analyzed 209 stage II gastric cancer specimens that received postoperative adjuvant chemotherapy at S-1.

Of the 209 cases, MSI status was evaluable in 185 samples (88.5%), and MSI-H was confirmed in 24 samples (13%). There was no significant difference between MSI-H and MSS in recurrence-free survival (RFS) [HR, 1.00; p = 0.997] and overall survival (OS) [HR, 0.66; p = 0.488], but MSI-H GCs had a better RFS than MSS [HR, 0.34; p = 0.064] and OS [HR, 0.22; p = 0.057] significantly better than MSS after adjusting for patient background with propensity scores.

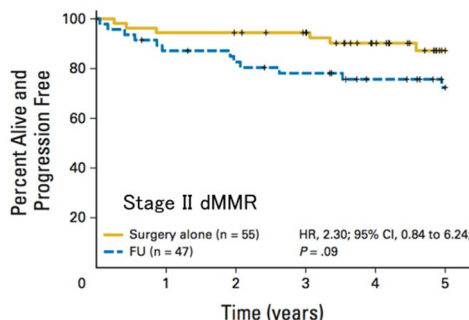
研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：腫瘍診断学 腫瘍治療学 腫瘍生物学

1. 研究開始当初の背景

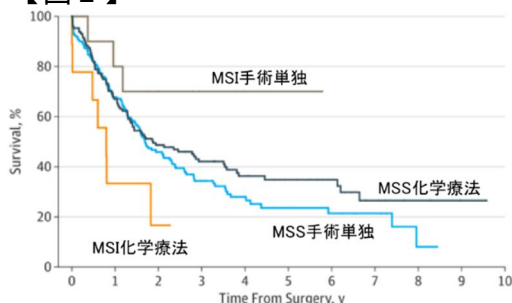
DNA 修復機構の異常であるマイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability, MSI) /ミスマッチ修復欠損 (mismatch repair deficiency, dMMR) が関与する腫瘍としては大腸癌が代表的である。治癒切除可能な stage II/III 大腸癌では～20%の頻度で MSI/dMMR が認められ、予後良好な集団として知られている。Stage II 大腸癌のうち、MSI/dMMR では、5-FU 単独による術後補助化学療法が手術単独と比べて無再発生存期間および全生存期間で劣ることが複数の臨床試験の結果、明らかとなっており (図 1)。Stage II 大腸癌のうち MSI/dMMR に対しては、5-FU 単独による術後補助化学療法は推奨されていない。一方、5-FU とオキサリプラチンの併用による術後補助化学療法が標準的治療である stage III 大腸癌では、MSI/dMMR においてそのような事象は認められておらず、全例で術後補助化学療法が推奨されている。このように MSI/dMMR は大腸癌術後の治療方針を決定する上で重要な情報と認識されている (Kawakami H, et al. J Gastrointest Oncol. 2015)。

【図 1】



Stage II/III 胃癌における MSI/dMMR の割合は～8%と報告されているが、胃癌における MSI/dMMR と術後補助化学療法の関係についての報告は少数である。韓国で行われた stage III 胃癌に対するカペシタピンとオキサリプラチンを用いた術後補助化学療法の試験 (CLASSIC trial) の追加解析では、MSI/dMMR において術後補助化学療法と手術単独との間に差がないことが報告された (Choi YY, et al. ASCO 2017)。

【図 2】



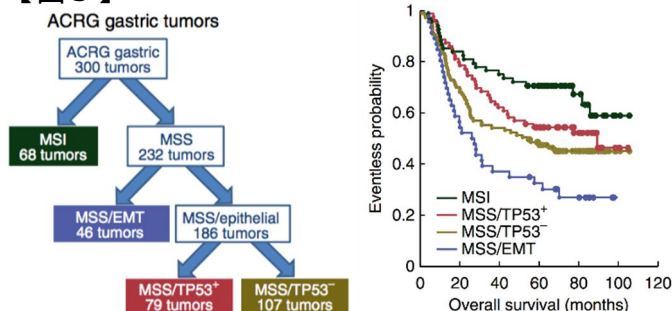
一方、英国で行われた切除可能胃癌を対象にした臨床試験 (MAGIC trial) の追加解析によって、MSI/dMMR とエピルピシン、オキサリプラチン、5-FU 経口抗癌剤 (カペシタピン) からなる周術期補助化学療法 (EOX) の効果との関係の解析が 303 例でなされ、MSI/dMMR では術後補助化学療法が手術単独に全生存で有意に劣り、また化学療法群においても MSI/dMMR は microsatellite stable (MSS)/MMR proficiency (pMMR) に明らかに劣る結果であった (Smith EC, et al. JAMA Oncology 2017、図 2)。

以上のように胃癌においても、術後補助化学療法が dMMR/MSI で無効ないし有害となる可能性が示唆されている。本邦では stage II/III 胃癌に対して 5-FU の経口抗癌剤である TS-1 による 1 年間の術後補助化学療法が標準治療である。しかしこれまでに MSI/dMMR と TS-1 術後補助化学療法の効果との関係は不明である。TS-1 術後補助化学療法が MSI/dMMR に負の効果をもたらしているか否かは、早急に解明すべき課題といえる。

胃癌を分子生物学的特徴に従って分類し、それぞれに対して治療方法を開発するという新しいアプローチが注目を集めている。

Asian Cancer Research Group (ACRG) は胃癌を遺伝子発現に基づいて MSI、MSS/EMT、MSS/TP53+、MSS/TP53- の 4 つのサブタイプに分類し、それぞれで予後が異なることを示した (Cristescu R, et al. Nature Med 2015)。これによると MSI サブタイプは約 20% (68/300) 存在し、最も予後が良い (図 3)。前述のように真の MSI は～8%であり MSI サブタイプには真の MSI/dMMR ではないが「MSI like」な一群が存在すると考えられる。この「MSI like」に対する術後補助化学療法の効果も不明である。

【図 3】



2. 研究の目的

大腸癌および胃癌における過去の検討から、術後補助化学療法が dMMR/MSI で無効ないし有害となる可能性が示唆されている。本邦では stage II/III 胃癌に対して 5-FU の経口抗癌剤である TS-1 による 1 年間の術後補助化学療法が標準治療であるが、MSI/dMMR と TS-1 術後補助化学療法の効果との関係は不明であるため、TS-1 術後補助化学療法が stage II/III MSI/dMMR 胃癌に負の影響を及ぼすかを当院の手術検体およそ 300 例を用い検討する。さらに今回の研究では遺伝子発現パターンに基づいて分類された MSI と真の MSI/dMMR との間に TS-1 術後補助化学療法の効果に違いがあるかについても探索的に調べ、それが腫瘍免疫的な環境の違いで説明可能か検討する。

3. 研究の方法

- (1) 当院において stage II/III 胃癌と診断され標準的な外科的切除 (D2 郭清術) をうけた症例のうち、TS-1 による術後補助化学療法で加療され 3 年以上経過した症例を MSI/dMMR の有無で二群に分け、TS-1 術後補助化学療法の効果 (RFS, 3yOS, OS) および再発後の生存 (OS-RFS) について Kaplan-Meier 法で示し Cox の比例ハザードモデルおよびログランク検定を用い群間の差を解析する。

MMR 免疫組織染色は、Dako 社のミスマッチ修復タンパク (MLH1, PMS2, MSH6, MSH2) 抗体キットおよび autostainer を用いて行う。ミスマッチ修復タンパク欠損率のデータ収集は、バイアスを避けるために臨床データ情報を盲検化して行う。

PCR にて MSI マーカー (BAT-25, BAT-26, MONO-27, NR-21, NR-24) を検出する。5 つのマーカーのうち 2 つ以上の陽性例を MSI とする。MSI 解析には、プロメガ社の MSI Analysis System, Version 1.2 を用いる。

患者背景因子については、診療録から以下の内容を調査・確認する。1) 性別、2) 年齢 (生年月日)、3) 病理組織型、4) 前治療の有無・内容、5) TNM 分類、6) 患者識別コード、7) TS-1 の治療内容、治療期間、治療効果 (無再発生存期間 (RFS)、3 年生存期間 (3yOS) 全生存期間 (OS)、8) TS-1 開始前の白血球数およびリンパ球数、9) BMI など

- (2) MSS/pMMR のうち 50 例の検体で、Affymetrix Human Genome U133plus 2.0 Array などを用い遺伝子発現を調べ、ACRG のアルゴリズムによって MSI、MSS/EMT、MSS/TP53+, MSS/TP53- の 4 つのサブタイプに分類する。MSS/pMMR の中での MSI サブタイプなので、これを「MSI like」と考え、MSI/dMMR と以下の項目で比較を行う。

PD-L1、PD-L2、PD-1、B7-H3 及びその他 TIL 関連マーカー (CD3、CD4、CD8 など) のタンパク質発現量を評価する。CD8 陽性 T 細胞の腫瘍中心部での浸潤量が治療効果と関連があるとの報告があるため、これもあわせて免疫染色にて評価する。

必要に応じて次世代シーケンサー (イルミナ社 MiSeq、ライフテクノロジーズ社 IonProton) による DNA を用いた Exome 解析および Comprehensive Cancer Panel による Targeted sequencing、RNA を用いた RNAseq 解析を実施する。

4. 研究成果

S-1 にて術後補助化学療法を受けた stage II 胃癌検体 209 例を集め解析を行った。登録された 209 人の患者のうち、185 サンプル (88.5%) で MSI ステータスが評価可能であり、24 サンプル (13%) で MSI-H が確認された。無再発生存期間 (RFS) [HR, 1.00; p = 0.997] および全生存期間 (OS) [HR, 0.66; p = 0.488] において、MSI-H と MSS の間には有意な差はなかったが、MSI-H GC は、傾向スコアで患者の背景を調整した後、MSS よりも RFS [HR, 0.34; p = 0.064] および OS [HR, 0.22; p = 0.057] が大幅に改善した。臨床データのみで論文作成し、複数投稿したが採択されず、現在別解析を追加し再投稿準備中である。

Stage II MSI-H 胃癌 24 例と背景をマッチングさせた MSS 胃癌 24 例を用いて Stage II MSI-H 胃癌に対して S-1 術後補助化学療法の上乗せ効果がほとんどない理由を、特に MSS と比較して腫瘍免疫学的環境に関係する gene expression/gene alteration がどう違うのかに注目して検討する。mRNA : Oncomine™ ImmuneResponseResearch Assay (OIRRA) を用いて腫瘍組織の免疫関連遺伝子の mRNA の発現状況を調べる。

OIRRA は、腫瘍学及び免疫療法反応の研究に関連する約 400 個の遺伝子の遺伝子発現レベルを検討できる RNA ベースの複数バイオマーカーの次世代シーケンシング (NGS) アッセイである。Oncomine™ Comprehensive Assay (OCA) Plus を用いて腫瘍検体から抽出した RNA 及び DNA を解析する。

以上の検討についても現在検討中であり 2022 年 7 月末に結果が得られる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Chihiro Sato |
| 2. 発表標題 Efficacy of Adjuvant S-1 mono therapy in MSI-H stage II Gastric Cancer |
| 3. 学会等名 第18回日本臨床腫瘍学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 田中亮 |
| 2. 発表標題 Efficacy of Adjuvant S-1 mono therapy in MSI-H stage II Gastric Cancer |
| 3. 学会等名 第93回日本胃癌学会総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 川上尚人 |
| 2. 発表標題 Distinctive Characteristics of MSI-H in chemo and immune therapy for gastric cancer |
| 3. 学会等名 第94回日本胃癌学会総会 |
| 4. 発表年 2022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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|