

令和 4 年 5 月 13 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09117

研究課題名(和文) HER2陽性胃癌における遺伝子異常の包括的評価と臨床的意義の解明

研究課題名(英文) Clinical significance of comprehensive genomic analysis in HER2 positive gastric cancer

研究代表者

臼井 賢司 (Usui, Kenji)

新潟大学・医歯学総合病院・助教

研究者番号：70769413

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：HER2過剰発現を呈するHER2陽性胃癌に対する薬物治療では抗HER2療法が第一選択である。HER2遺伝子(ERBB2)の増幅程度やHER2下流の遺伝子異常は抗HER2療法の治療効果に関与している可能性がある。本研究ではこれらの遺伝子異常を包括的に評価できる癌遺伝子解析パネルの解析データを用い、癌遺伝子解析パネルのHER2陽性胃癌を同定する精度が高いこと、ERBB2増幅の程度やHER2下流の遺伝子異常が抗HER2療法の治療効果に関連してい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

本研究では癌遺伝子解析パネルのHER2陽性胃癌同定の精度が高いこと、ERBB2増幅の程度やHER2下流の遺伝子異常の有無がHER2陽性胃癌の一次治療であるtrastuzumabによる抗HER2療法の治療効果に関連している可能性を見出した。癌遺伝子解析パネルは現在保険診療として臨床応用されているが、標準治療に抵抗性の患者のみが対象であり、治験等の新規治療の可能性を探索するために用いられている。本研究成果の学術的・社会的意義は、胃癌診療におけるHER2陽性胃癌の同定や標準的な薬物治療の選択においても癌遺伝子解析パネルが有用である可能性を示した点である。

研究成果の概要(英文)：Anti-HER2 therapy is the first-line treatment for HER2-positive gastric cancer that overexpresses HER2, and the degree of amplification of ERBB2 and genetic aberrations in the downstream of HER2 may be involved in the therapeutic efficacy of anti-HER2 therapy. In this study, utilizing the analysis data of the cancer gene panel, which can comprehensively evaluate these genetic aberrations, we found that the high accuracy of the cancer gene panel in identifying HER2-positive gastric cancer and the degree of ERBB2 amplification and genetic aberrations in the downstream of HER2 were associated with the therapeutic efficacy of anti-HER2 therapy.

研究分野：消化器外科学

キーワード：胃癌 HER2陽性 抗HER2療法 癌遺伝子解析パネル trastuzumab ERBB2

## 1. 研究開始当初の背景

HER2 タンパク質過剰発現を呈する胃癌 (HER2 陽性胃癌) に対する抗 HER2 抗体薬 trastuzumab の治療効果は高く、大規模臨床試験の結果では治療開始からの生存期間中央値は 16 か月に達した (Lancet 2010)。そのため、切除不能進行再発胃癌に対する治療選択の際には、腫瘍組織における HER2 発現や ERBB2 増幅を評価することが必須とされている。一方で、HER2 陽性胃癌であっても約 40% の症例では trastuzumab による腫瘍縮小効果が不十分であることも明らかになってきた (Cancer research and treatment 2016)。また、HER2 陽性胃癌を対象とした HER2 阻害剤 lapatinib に関する第 3 相臨床試験が行われたが、有効性は証明されなかった (Journal of clinical oncology 2014, Journal of clinical oncology 2016)。これらの背景には何らかの抗 HER2 療法抵抗性の関与が示唆されている。今後さらに切除不能進行胃癌に対する分子標的治療を進展させ患者予後を改善させるためには、抗 HER2 療法抵抗性に関わる分子機構を明らかにする必要がある。

胃癌と比較して乳癌における抗 HER2 療法の歴史は長く、その抵抗性に関する研究は多数行われており、ERBB2 増幅による HER2 過剰発現の他に、HER2 下流の経路に関与する遺伝子の異常、他のレセプター型チロシンキナーゼ (RTK) やその下流の遺伝子異常、またはその他の細胞増殖に関わる経路の異常が関与していることが証明されている (Annals of Oncology 2012)。胃癌においては、少数の基礎研究の報告のみではあるが、乳癌と同様に HER2 下流の経路や他の RTK 経路の異常が関与している可能性が示唆されている (Scientific Reports 2015, Journal of Gastrointestinal Oncology 2016, Oncotarget 2017)。

Precision Medicine は、治療の最適化による患者予後改善効果、及び費用対効果の点で有用性が期待されている。癌遺伝子解析パネルは癌の発育進展に重要な複数のドライバー遺伝子の変異やコピー数変化を包括的に評価できるため、個々の腫瘍における遺伝子異常をもとに薬物治療を選択する Precision Medicine の概念に即した治療を行うためには必要不可欠である。一般的に胃癌や乳癌における HER2 過剰発現や ERBB2 増幅については免疫組織化学 (IHC) や蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法 (FISH) によって行われているが、その他の遺伝子異常を評価するためには別の検査系が必要である。癌遺伝子解析パネルは ERBB2 の変異や増幅 (ERBB2 遺伝子異常) を評価しつつ、同時にその下流や他の細胞増殖経路の遺伝子異常も評価できるため、抗 HER2 療法の最適化にとって有用な可能性がある。

上述した学術的背景から考えられる学術的「問い」は以下の 2 点である。

- 癌遺伝子解析パネルによる ERBB2 遺伝子異常評価の精度：  
胃癌の HER2 発現は腫瘍内の不均一性 (heterogeneity) が強く、一定量の腫瘍組織を homogenize した検体を用いる次世代シーケンスの ERBB2 コピー数変化解析結果と、免疫組織化学の結果とが一致しない可能性がある。以上により考えられる学術的「問い」は、「癌遺伝子解析パネルによる ERBB2 遺伝子異常評価と現在臨床検査として行われている IHC や FISH との整合性、すなわち ERBB2 遺伝子異常評価の精度がどの程度であるのか」である。
- ERBB2 遺伝子異常に併存するその他の遺伝子異常の臨床的意義：  
ERBB2 遺伝子異常と併存している、その下流や他の経路の遺伝子異常が最終的な腫瘍の増殖にどのように影響しているのか、trastuzumab の治療効果にどの程度影響しているのかは不明である。以上により考えられる学術的「問い」は、「ERBB2 遺伝子異常に併存するその他の遺伝子異常の臨床的意義は何か」である。

申請者らはこれらの「問い」を明らかにするために「癌遺伝子解析パネルによる ERBB2 遺伝子異常評価は既存の IHC や FISH による評価と一致する。併存する遺伝子異常を包括的に評価することで胃癌の抗 HER2 療法を最適化することが可能である」という仮説を立て、本研究を企画した。

## 2. 研究の目的

「胃癌における癌遺伝子解析パネルを用いた ERBB2 遺伝子異常評価の精度、および併存する遺伝子異常の臨床的意義を明らかにすることで、抗 HER2 療法を基軸とした胃癌薬物治療発展への足がかりとすること」である。

## 3. 研究の方法

### (1) 胃癌腫瘍組織における HER2 過剰発現の評価：

胃癌切除検体 130 例の原発巣における HER2 発現を臨床検査 (HER2 検査) に準じて免疫組織化学 (IHC) や FISH で評価した。IHC にはヒストファイン HER2 キット (MONO) ユニバーサルキット (ニチレイバイオサイエンス) を、FISH にはパスビジョン HER-2 DNA プローブキット (PathVysion; Abbott Molecular) 用いた。IHC で 3+、または IHC2+ で FISH 陽性 (HER2/CEP17 比 2.0) を HER2 陽性と定義した。全例で IHC や FISH と癌遺伝子パネルは同

一のホルマリン固定後パラフィン包埋 (FFPE) ブロックを用いた。35 例は癌遺伝子パネルとは異なる FFPE ブロックを用いて行われた臨床的な HER2 検査結果も検討した。

(2) 癌遺伝子解析パネルによる胃癌の遺伝子異常の評価 :

胃癌切除検体 130 例の原発巣のホルマリン固定後パラフィン包埋 (FFPE) 検体から DNA を抽出し、癌遺伝子解析パネル (CANCERPLEX; KEW Inc., Cambridge, MA) を用いて癌関連 435 遺伝子の一塩基置換、挿入・欠失、コピー数変化を評価した。ERBB2 増幅についてはコピー数 2.5 倍を増幅ありと定義した。cBioPortal (<http://www.cbioportal.org/>) で RTK-RAS-PI3K、Cell cycle 経路として定義されている遺伝子を 435 遺伝子から抽出し、ERBB2 下流の遺伝子異常として評価した。

(3) 抗 HER2 療法の治療効果の評価 :

trastuzumab による抗 HER2 療法を施行した症例の治療効果を臨床情報から抽出した。治療中の最良治療効果を RECIST ver1.1 に準じて評価した。

#### 4. 研究成果

(1) 癌遺伝子解析パネルによる ERBB2 遺伝子異常と HER2 過剰発現の関係 :

130 例中 HER2 陽性は 16 例 (12.3%) であった。また、ERBB2 増幅は 11 例 (8.5%) に認められた。10 例は HER2 陽性かつ ERBB2 増幅、113 例は HER2 陰性かつ ERBB2 非増幅であり、HER2 検査としての癌遺伝子パネルの精度は 94.6% であった。癌遺伝子パネルに用いた FFPE ブロックと異なる検体を用いた HER2 検査の結果を検討したところ、癌遺伝子パネルの精度は 80.0% と低下した。

癌遺伝子パネルによる HER2 検査の精度は高く、胃癌における抗 HER2 療法適応症例の選択に有用である可能性が示唆された。

(2) ERBB2 遺伝子異常に併存する遺伝子異常の解明 :

胃癌 130 例中 13 例は癌遺伝子パネルによる ERBB2 の遺伝子増幅を認め、16 例は HER2 テスト (免疫染色や FISH) が陽性であった。ERBB2 遺伝子増幅または HER2 テスト陽性は 18 例であり、HER2 陽性と定義した。HER2 陽性 18 例の遺伝子解析データを基に、ERBB2 の下流にあるシグナル伝達経路に関わる遺伝子異常を評価した。RTK-RAS-PI3K 経路の遺伝子異常を 6 例 (33.3%) に、Cell cycle 経路の遺伝子異常を 6 例 (33.3%) に認め、HER2 陽性 18 例のうち 10 例 (55.6%) に ERBB2 の下流に何らかの遺伝子異常が併存していた。

(3) ERBB2 遺伝子異常に併存する遺伝子異常の臨床的意義 :

癌遺伝子解析パネルによる遺伝子解析を施行した胃癌 130 例中例、trastuzumab による治療を施行した 6 例を対象とした。HER2 検査は免疫組織化学 (IHC) 3+ が 3 例、IHC2+ かつ FISH 陽性が 2 例、IHC 陰性が 1 例であった。IHC3+ かつ ERBB2 増幅の fold change が 11 倍であり、ERBB2 下流の RTK-RAS-PI3K 経路や Cell cycle 経路の遺伝子異常が認められなかった症例では、抗 HER2 療法により遠隔リンパ節転移巣が著明に縮小し根治切除を得られていた。一方、IHC3+ かつ ERBB2 増幅の fold change が 52.4 倍であり、Cell cycle 経路の複数の遺伝子異常を伴っていた症例では、同治療による腫瘍の縮小率は 30% 未満であった。IHC2+ かつ FISH 陽性であったが ERBB2 増幅の fold change が 1.8 倍であった症例では、抗 HER2 療法を施行するも腫瘍の増大を認め治療抵抗性であった。

本研究により、ERBB2 の遺伝子増幅の程度や ERBB2 下流の経路における遺伝子異常の有無が trastuzumab による抗 HER2 療法の治療効果に関連していることが示唆された。

(4) 成果のまとめ

癌遺伝子パネルによる HER2 検査の精度は高く、胃癌における抗 HER2 療法適応症例の選択に有用な可能性がある。

HER2 陽性の約 6 割に ERBB2 下流の経路の遺伝子に何らかの異常が併存している。

ERBB2 の遺伝子増幅の程度や ERBB2 下流の経路における遺伝子異常の有無が trastuzumab による抗 HER2 療法の治療効果に関連している可能性がある。

胃癌診療における HER2 陽性胃癌の同定や標準的な薬物治療の選択においても癌遺伝子解析パネルが有用な可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroshi Ichikawa, Kenji Usui, Yoshifumi Shimada, Yusuke Muneoka, Takaaki Hanyu, Yosuke Kano, Takashi Ishikawa, Kohei Miura, Masayuki Nagahashi, Jun Sakata, Takashi Kobayashi, Hiroshi Yabusaki, Satoru Nakagawa, Hitoshi Kameyama, Shujiro Okuda, Toshifumi Wakai
2. 発表標題 Gene panel testing as a clinical application for detecting HER2 alterations in gastric cancer
3. 学会等名 15th Annual Academic Surgical Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Ichikawa, Hiroshi Yabusaki, Takaaki Hanyu, Yoshifumi Shimada, Masayuki Nagahashi, Jun Sakata, Takashi Kobayashi, Satoru Nakagawa, Hitoshi Kameyama, Toshifumi Wakai
2. 発表標題 Genomic alteration spectrum and future direction of targeted therapy for gastric cancer
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

〔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	奥田 修二郎  (Okuda Shujiro)  (00512310)	新潟大学・医歯学系・教授    (13101)	
研究分担者	島田 能史  (Shimada Yoshifumi)  (20706460)	新潟大学・医歯学系・講師    (13101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	永橋 昌幸 (Nagahashi Masayuki)  (30743918)	新潟大学・医歯学総合病院・研究准教授  (13101)	
研究分担者	若井 俊文 (Wakai Toshifumi)  (50372470)	新潟大学・医歯学系・教授  (13101)	
研究分担者	羽入 隆晃 (Hanyu Takaaki)  (50719705)	新潟大学・医歯学総合病院・講師  (13101)	
研究分担者	市川 寛 (Ichikawa Hiroshi)  (50721875)	新潟大学・医歯学系・助教  (13101)	
研究分担者	石川 卓 (Ishikawa Takashi)  (70586940)	新潟大学・医歯学総合病院・准教授  (13101)	
研究分担者	小杉 伸一 (Kosugi Shin-ichi)  (90401736)	新潟大学・医歯学総合病院・特任教授  (13101)	

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
---------	---------