

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20839

研究課題名（和文）抗HER2抗体薬物複合体に耐性を付与するHER2胃癌のゲノム異常と微小環境の探索

研究課題名（英文）Exploratory study of genomic abnormalities and microenvironment of HER2 gastric cancer that confers resistance to anti-HER2 antibody-drug conjugate

研究代表者

山口 享子（Yamaguchi, Kyoko）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：50896933

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：まず特定の遺伝子異常と治療効果との関連を調べるため、国立がん研究センターがんゲノム情報管理センターと契約を締結し、国内で実施されたがん遺伝子パネル検査の結果を解析しました。解析の結果、特定の遺伝子の異常が検出されたHER2陽性の胃癌の方では、検出されなかった方と比べて抗HER2薬物複合体の治療効果が乏しい傾向がみられました。この遺伝子の異常が薬剤の耐性に関するメカニズムについて解析を行っています。また、がんの中にできるリンパ節のような構造物（三次リンパ組織）に注目し、多重蛍光免疫染色や網羅的遺伝子解析技術を用いて、三次リンパ組織の構成細胞と薬剤の治療効果との相関関係の評価を進めています。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、抗HER2抗体薬物複合体の治療効果を減弱する可能性のある遺伝子異常が存在することが示唆される結果が得られました。今後はより多い症例集団で解析を行うことと、分子生物学実験でこの遺伝子異常の役割をさらに深めていく予定です。本研究成果は、HER2陽性胃癌において抗HER2抗体薬物複合体の治療効果を予測するためのバイオマーカーの開発ならびに、治療抵抗性のメカニズムを明らかにするための一助として期待されます。

研究成果の概要（英文）：First, to investigate the relationship between specific genomic alterations and treatment efficacy, we concluded a contract with the Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics of the National Cancer Center and analyzed the results of comprehensive genomic profiling tests conducted in Japan. The results showed that HER2-positive gastric cancer patients with a specific genomic alteration tended to have a poorer response to anti-HER2 drug conjugate than those without the alteration. We are analyzing the mechanism by which this genetic alteration is involved in drug resistance. We are also focusing on lymph node-like structures (tertiary lymphoid structure) that form within cancer, and using multiple fluorescent immunostaining and comprehensive genetic analysis techniques, we are evaluating the correlation between the constituent cells of tertiary lymphoid tissues and the therapeutic effect of drugs.

研究分野：腫瘍内科学

キーワード：HER2陽性胃癌 抗体薬物複合体 がんゲノム異常 三次リンパ組織

1. 研究開始当初の背景

T-DXd は抗 HER2 抗体に DNA トポイソメラーゼ I 阻害活性を持つエキサテカン誘導体 DXd を結合させた抗体薬物複合体である。本邦では 2020 年に HER2 陽性乳癌に承認され、引き続いて同年中に HER2 陽性胃癌に対して承認された。本研究を開始した 2021 年時点では HER2 陽性胃癌での T-DXd の承認から 1 年が経過していなかった。T-DXd は臨床試験で高い抗腫瘍効果を示していたが、T-DXd が当初より無効な症例や治療中に耐性となる症例も存在し、耐性機序や治療効果を予測するバイオマーカーは明らかになっていなかった。

T-DXd の耐性機序は現時点で明らかになっていないが、示唆的なデータがある。HER2 陽性又は HER2 変異陽性の胃癌・乳癌以外の固形腫瘍対象の第 Ⅲ 相試験では、大腸癌で T-DXd の奏効割合・無増悪生存期間が際立って低かった (Tsurutani J et al., *Cancer Discov.* 2020)。大腸癌の患者では、35%に *KRAS/NRAS* の活性化変異を認め、MAPK 経路の恒常的な活性化が T-DXd の治療効果を減弱する可能性が示唆されていた。実際に、研究開始当時進行中であった HER2 陽性大腸癌に対する T-DXd の第 Ⅲ 相試験は、RAS 野生型に限定されていた。乳癌では、MAPK や PI3K 経路の活性化が、抗 HER2 抗体に抵抗性をもたらす可能性が示されていた (Sueta A et al., *PLoS One.* 2014)。HER2 陽性胃癌でも、抗 HER2 抗体耐性後に、一部で MAPK/PI3K 経路の遺伝子異常が付加されることが報告されていた (Janjigian YY et al., *Cancer Discov.* 2018)。以上より、併存する腫瘍の遺伝子異常が T-DXd の治療効果を左右するのではと考えた。

また、T-DXd が樹状細胞や腫瘍特異的 T 細胞を賦活化し抗腫瘍効果を発揮する可能性が示されており、宿主因子の検討も必要と考えた。様々な癌種で腫瘍局所の TLS が患者予後と関連することが示されている。申請者は過去に、特定の免疫細胞で構成される TLS 型が優位な大腸癌患者では予後が不良なことを報告している (Yamaguchi K et al., *Oncoimmunology.* 2020)。TLS は腫瘍局所で腫瘍特異的 T 細胞の分化・活性化の場となり、抗腫瘍免疫応答の要を担うリンパ節様組織として機能する。しかし、腫瘍細胞と TLS との相互作用により、TLS の構成成分に変化が生じ、その結果、抗腫瘍免疫応答の場としての TLS の機能が減弱していく可能性を本研究では考えた。以上より、腫瘍局所の TLS の状態が、T-DXd の治療効果に影響を及ぼすのではないかと考えた。

2019 年 6 月よりがん遺伝子パネル検査が保険適用となった。本検査では、数十から数百の発がんなどに関わる遺伝子群の異常を一度に調べることが可能である。本検査の結果のうち患者同意の得られたものは、国立がん研究センターのがんゲノム情報管理センター (Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics: C-CAT) に収集されている。この解析結果と、結果に紐づいた臨床情報を調べることで、腫瘍細胞の遺伝子変異と臨床経過の相関性を評価することが可能となった。

以上の背景の元、本研究計画を作成した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、HER2 陽性胃癌における T-DXd の耐性機序を明らかにし、耐性を打破するための新規治療標的を探索することである。具体的には、腫瘍細胞のゲノム異常と、宿主の抗腫瘍免疫応答に焦点を当て研究を行うこととした。

腫瘍細胞の遺伝子変異に用いる情報は、C-CAT に集積された実地臨床における日本人のがんゲノム情報であり、極めて実臨床に近いデータと考えられる。また、HER2 陽性胃癌での腫瘍局所の TLS に関する報告は極めてわずかであった。以上より、本研究結果をもとに、HER2 陽性胃癌の腫瘍局所での抗腫瘍免疫応答ならびに治療反応性について調べ、治療効果を予測するためのバイオマーカー開発や耐性機序解明への応用を目指すこととした。

3. 研究の方法

C-CAT に蓄積されたがんゲノム情報と紐づいた臨床情報を収集し解析を行った。統計学的解析は、T-DXd の無増悪生存期間 (progression-free survival: PFS) を目的変数とし、Cox 回帰モデルを用いて多変量解析を行い、治療効果に影響のある因子を抽出した。

本研究計画は、九州大学病院の倫理審査委員会で審査・承認済みであり、C-CAT とは情報の利活用の審査・承認を受けたうえで実施している。本研究計画では遺伝に関わる生殖細胞系列変異の解析を予定していない。また、ヒト正常胃組織を用いた *in vitro* での検討についても倫理審査委員会の審査・承認を得た上で実施している。

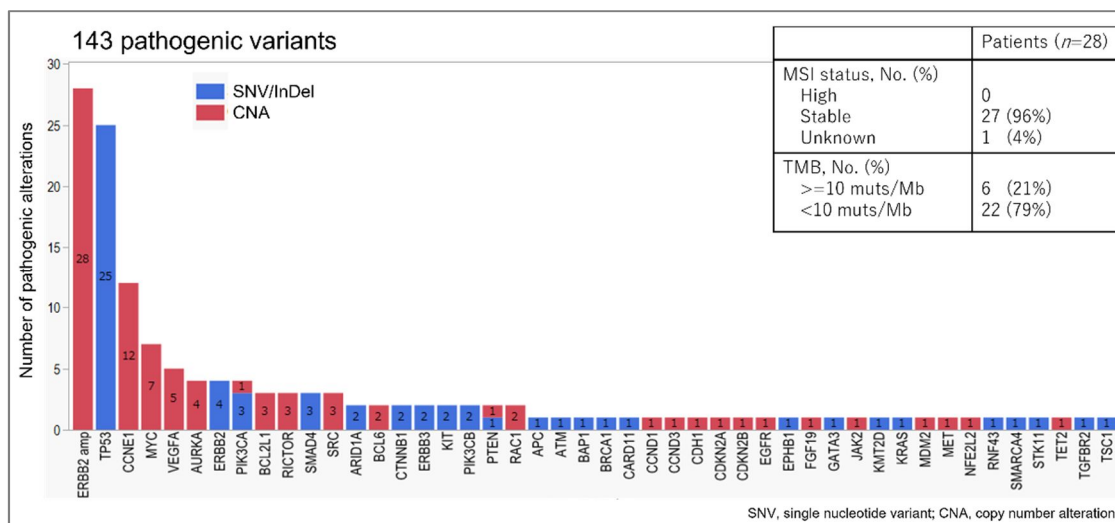
4. 研究成果

4 - 1 . T-DXd の治療効果とがんゲノム異常

2019年6月から2022年9月の期間にT-DXdによる治療を受け、がん遺伝子パネル検査の結果ERBB2増幅を検出した胃癌患者を解析対象とした。C-CATデータベースには該当する症例が28例登録されており、治療効果ならびにがんゲノム異常の解析を行った。症例は22例(79%)が男性で、組織型は腸型10例(36%)、びまん型6例(21%)、混合型2例(7%)、その他(不明含む)10例(36%)であった。HER2 IHCは、3+ 18例(64%)、2+ 7例(25%)、0 1例(4%)、不明2例(7%)だった。23例(82%)がトラスツズマブによる前治療歴を有していた。T-DXdの最良効果は、部分奏効(partial response) 5例(18%)、安定(stable disease) 14例(50%)、増悪(progressive disease) 7例(25%)、評価不能 2例(7%)だった。解析した28例全例で組織検体を用いた遺伝子パネル検査が実施されていた。検体の取得時期は、トラスツズマブ治療前かつT-DXd治療前の症例17例(61%)、トラスツズマブ治療後だがT-DXd治療前の症例9例(32%)、トラスツズマブ・T-DXd治療後2例(7%)だった。28例で合計143の病的変異が検出された。変異の種類・数を図1に示す。

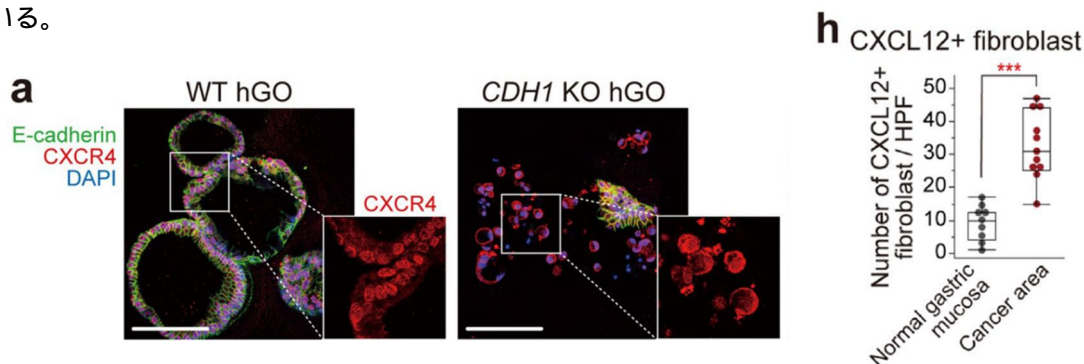
本研究の対象症例は28例と少数であり、今後も引き続き症例の集積を行い、より多数の症例を集積した上で同様の解析を予定している。特定の遺伝子異常・パスウェイ経路の異常と、患者予後との相関関係を多変量解析で評価し、T-DXdの治療効果と相関する因子の探索を予定している。その後、得られた遺伝子異常について、HER2陽性胃癌細胞株を用いてin vitro, in vivoで抽出された遺伝子異常の機能的意義を評価する予定である。

図1. 病的遺伝子異常(28例)



4 - 2 . 胃癌の遺伝子異常と腫瘍微小環境

HER2胃癌の組織型は腸型が多いが、一定数びまん型を呈する症例が存在する。びまん型胃癌ではCDH1遺伝子の変異またはメチレーション異常を高率に認めるが、本研究では、In vitroにおいて、ヒトの正常胃組織より樹立したヒト胃オルガノイドを用い、CDH1遺伝子のknockout(KO)を行った。その結果、CDH1 KO細胞では細胞膜表面のCXCR4受容体の発現亢進を認めた(図a)。CXCR4は主にCXCL12をリガンドとして細胞内にシグナル伝達を行うが、びまん型胃癌の切除検体を用いた免疫組織化学染色による検討では、非腫瘍性病変と比べて腫瘍病変においてCXCL12陽性の-SMA陽性細胞(線維芽細胞)が有意に多く浸潤している結果が得られた(図h)。今後はHER2陽性胃癌の組織切片を用いて腫瘍微小環境(TLS含む)のフェノタイプ解析を予定している。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamaguchi Kyoko, Tsuchihashi Kenji, Tsuji Kunihiro, et al.	4. 巻 100
2. 論文標題 Prominent PD-L1-positive M2 macrophage infiltration in gastric cancer with hyper-progression after anti-PD-1 therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e25773 ~ e25773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000025773	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 Yamaguchi Kyoko, Yoshihiro Tomoyasu, Ariyama Hiroshi, et al.	4. 巻 25
2. 論文標題 Potential therapeutic targets discovery by transcriptome analysis of an in vitro human gastric signet ring carcinoma model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 862 ~ 878
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-022-01307-8	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Kyoko Yamaguchi, Mamoru Ito, Taichi Isobe, Kenji Tsuchihashi, Hiroshi Ariyama, Eishi Baba
2. 発表標題 Genomic alterations and biomarker analysis of ERBB2 amplified gastric cancer treated with Trastuzumab Deruxtecan
3. 学会等名 第20回日本臨床腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山口享子、吉弘知恭、有山寛、土橋賢司、草場仁志、馬場英司、赤司浩一
2. 発表標題 胃印環細胞癌モデルを使用した新規治療標的の探索
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021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
---------	---------