

文 献

- 1) 永橋昌幸, 高部和明, 若井俊文: 乳癌領域におけるプレシジョン・メディシンの新展開. 医学のあゆみ 261: 583-588, 2017.
- 2) Nagahashi M, Wakai T, Shimada Y, Ichikawa H, Kameyama H, Kobayashi T, Sakata J, Yagi R, Sato N, Kitagawa Y, Uetake H, Yoshida K, Oki E, Kudo SE, Izutsu H, Kodama K, Nakada M, Tse J, Russell M, Heyer J, Powers W, Sun R, Ring JE, Takabe K, Protopopov A, Ling Y, Okuda S and Lyle S: Genomic landscape of colorectal cancer in Japan: clinical implications of comprehensive genomic sequencing for precision medicine. *Genome Med* 8: 136, 2016.
- 3) Shimada Y, Yagi R, Kameyama H, Nagahashi M, Ichikawa H, Tajima Y, Okamura T, Nakano M, Nakano M, Sato Y, Matsuzawa T, Sakata J, Kobayashi T, Nogami H, Maruyama S, Takii Y, Kawasaki T, Homma KI, Izutsu H, Kodama K, Ring JE, Protopopov A, Lyle S, Okuda S, Akazawa K and Wakai T: Utility of comprehensive genomic sequencing for detecting HER2-positive colorectal cancer. *Hum Pathol* 66: 1-9, 2017.
- 4) Nagahashi M, Shimada Y, Ichikawa H, Nakagawa S, Sato N, Kaneko K, Homma K, Kawasaki T, Kodama K, Lyle S, Takabe K and Wakai T: Formalin-fixed paraffin-embedded sample conditions for deep next generation sequencing. *J Surg Res* 220: 125-132, 2017.
- 5) Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, Fluge O, Pergamenschikov A, Williams C, Zhu SX, Lønning PE, Børresen-Dale AL, Brown PO and Botstein D: Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406: 747-752, 2000.
- 6) 亀山仁史, 島田能史, 市川 寛, 永橋昌幸, 坂田 純, 小林 隆, 野上 仁, 丸山 聡, 瀧井康公, 奥田修二郎, 凌 一葦, 井筒 浩, 兒玉啓輔, 中田光隆, 若井俊文: がん遺伝子変異解析パネル (CancerPlex) を用いた新たな進行大腸癌分類. 癌と化学療法 43: 1361-1365, 2016.

2 大腸癌の Precision Medicine に向けて

島田 能史

新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野 (第一外科)

Precision Medicine in patients with Colorectal Cancer

Yoshifumi SHIMADA

*Division of Digestive and General Surgery,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

Reprint requests to: Yoshifumi SHIMADA
Division of Digestive and General Surgery,
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先: 〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野 (第一外科) 島田能史

要 旨

次世代シーケンサーを用いた包括的な癌関連遺伝子変異解析により、大腸癌を含む固形癌患者に対する Precision Medicine が可能となる。次世代シーケンサーによる遺伝子変異解析においては、ホルマリン固定パラフィン包埋サンプルの精度管理が重要である。ホルマリン固定パラフィン包埋サンプル作製において重要な点は、10% 中性緩衝ホルマリン固定液を使用すること、固定時間は 48 時間以内とすることである。また、ホルマリン固定パラフィン包埋サンプルの経年劣化を考慮して 7 年以内に解析を行うことである。

これまで大腸癌を含む固形癌患者に対する薬物療法は、臓器ごとに縦割りに行われてきた。しかし、現在ではドライバー遺伝子変異により、対応する薬剤が臓器横断的に使用されるようになってきている。例えば、HER2 陽性の乳癌および胃癌に対して、抗 HER2 療法が有効である。近年では、HER2 陽性の胃腸癌に対しても、抗 HER2 療法の有効性が示されている。このように、今後は HER2 などの分子標的薬と関連するバイオマーカーを基盤とした臓器横断的分類が重要となると考えられる。

キーワード：大腸癌， Precision Medicine， 次世代シーケンサー

はじめに

次世代シーケンサー (Next-generation sequencer : NGS) を用いた大規模な癌ゲノム解析の結果、大腸癌を含む固形癌のさまざまな遺伝子変異が明らかとなってきている¹⁾。さらに、これらの解析から固形癌に対する分子標的薬の効果を予測するドライバー遺伝子変異が詳細にわかるようになってきた。その結果、かつては同一の化学療法レジメンで治療されていた癌腫が、現在ではドライバー遺伝子変異ごとに対応する分子標的薬で治療される時代となってきている。こうした流れの中、2015 年 1 月 20 日に米国のオバマ前大統領は、一般教書演説で“Precision Medicine Initiative”を打ち出し、ゲノムなどのさまざまな情報を駆使して、個人に最適な疾患の治療法・予防法を開発すると発表した。

NGS による遺伝子変異解析は、多くの遺伝子変異を効率よく解析することができるため、Precision Medicine への応用が期待されている。本項では、まず固形癌の NGS に必要なサンプル作製方法を示す。次に NGS の臨床応用の例として、HER2 増幅を有する大腸癌に対する抗 HER2 療法について述べる。

NGS のためのサンプルの精度管理

NGS を利用して遺伝子変異に関する情報を得るための方法として、whole genome sequencing, whole exome sequencing, そして target sequencing の 3 つがある。最大で数百程度までの癌関連遺伝子変異を対象にした target sequencing は、配列を読む領域を短く設定できるため、ホルマリン固定によりある程度断片化が進んだ DNA も解析可能である。よって、target sequencing では日常臨床で広く普及しているホルマリン固定パラフィン包埋 (Formalin-fixed, paraffin-embedded : FFPE) サンプルを利用することが可能である。

今回我々が行う NGS では、FFPE サンプルから HE 標本 1 枚と未染色プレパラート (20 μ m 厚) 2 ~ 5 枚を作製する。FFPE サンプルでは、ホルマリン固定による DNA の断片化が生じるため、各医療施設での病理標本固定条件 (ホルマリン濃度、中性緩衝 / 酸性、固定時間) が DNA の質に影響する。FFPE サンプル作製において重要な点は、10% 中性緩衝ホルマリン固定液を使用すること、固定時間は 48 時間以内とすることである。また、FFPE の経年劣化を考慮して 7 年以内に NGS を行うことである (図 1)。

A サンプルの精度管理

- サンプル・・・ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE)
- FFPEおよびプレパラート作製時の注意点

FFPE作製	
<input type="checkbox"/>	材料: 外科切除, 生検
<input type="checkbox"/>	固定液: 10%中性緩衝ホルマリン
<input type="checkbox"/>	固定時間: 48時間以内
プレパラート作製	
<input type="checkbox"/>	FFPE保存期間: 7年以内
<input type="checkbox"/>	HE 1枚, 未染色 (20 μm) 2~5枚* *5枚でほぼすべての症例に対応

<参考文献>

- ◆FFPE作製方法・・・島田他. 新潟医学会誌 2016;130:191-202.
- ◆胃癌DNA抽出・・・市川他. 新潟医学会誌 2016;130:420-428.
- ◆肺癌DNA抽出・・・佐藤他. 新潟医学会誌 2016;130:601-611.

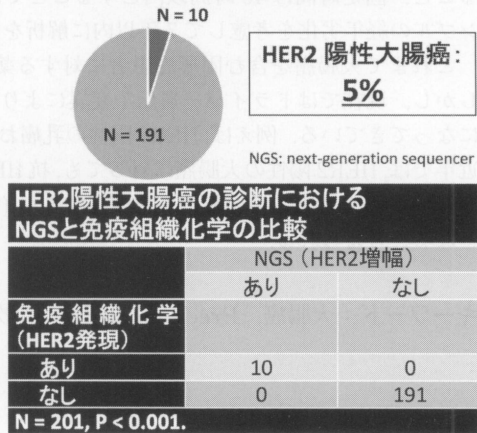
B HER2陽性大腸癌

- HER2陽性大腸癌で抗HER2療法が有効

Lancet Oncol. 2016;17:738-746.

Gastroenterology. 2015;148:20-21.

- NGSによるHER2陽性大腸癌の診断



診断一致率:
100%

Shimada Y, et al. Hum Pathol. 2017; doi: 10.1016/j.humpath.2017.02.004.

図1

- (A) サンプルの精度管理: 次世代シーケンサーによる遺伝子変異解析には, ホルマリン固定パラフィン包埋サンプルの精度管理が重要である
- (B) HER2 陽性大腸癌: HER2 陽性大腸癌の診断において, 次世代シーケンサーは免疫組織化学と同等である

大腸癌における抗HER2療法の可能性

これまで固形癌に対する薬物療法は, 臓器ごとに縦割りに行われてきた。しかし, 現在ではドライバー遺伝子変異により, 対応する薬剤が臓器横断的に使用されるようになってきている。乳癌でHER2陽性患者に対して有効性が示された抗HER2療法は, 胃癌でもHER2陽性患者に対して高い治療効果を示すことが明らかとなり, 本邦において進行・再発胃癌に対しても適応が拡大された。

近年, 海外の臨床試験でHER2陽性大腸癌に対して, 抗HER2療法の有効性が示された²⁾。ただし, 大腸癌における抗HER2療法の効果は, HER2受容体の下流に存在するKRASに変異がないKRAS野生型大腸癌に限定されている。そ

のため, 大腸癌の抗HER2療法の適応を決めるためには, HER2 statusと同時にKRAS遺伝子変異の有無を解析する必要がある。

我々は, 日本人大腸癌201例においてNGSによりHER2増幅を有する患者が5%存在すること³⁾, さらにNGSによるHER2増幅は, 従来のHER2 statusの診断法である免疫組織化学およびFluorescence in situ hybridizationと比較して高い診断一致率を示すことを報告した⁴⁾(図1)。また, NGSでは, HER2受容体の下流に存在するKRASなどの遺伝子変異を網羅的に解析することができることから, 抗HER2療法の適応症例を絞り込み最適化することが可能であると考えている。

おわりに

NGSを用いることにより、癌のドライバー遺伝子変異の状況を詳細に分析することが可能となった。NGSにおいては、FFPEサンプルの精度管理が重要である。また、今後はHER2などの分子標的薬と関連するバイオマーカーを基盤とした臓器横断的分類が重要となると考えられる。

文 献

- 1) Cancer Genome Atlas Research Network: Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 487: 330-337, 2012.
- 2) Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, Bencardino K, Lonardi S, Bergamo F, Zagonel V, Leone F, Depetris I, Martinelli E, Troiani T, Ciardiello F, Racca P, Bertotti A, Siravegna G, Torri V, Amatu A, Ghezzi S, Marrapese G, Palmeri L, Valtorta E, Cassingena A, Lauricella C, Vanzulli A, Regge D, Veronese S, Comoglio PM, Bardelli A, Marsoni S and Siena S: Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 17: 738-746, 2016.
- 3) Nagahashi M, Wakai T, Shimada Y, Ichikawa H, Kameyama H, Kobayashi T, Sakata J, Yagi R, Sato N, Kitagawa Y, Uetake H, Yoshida K, Oki E, Kudo SE, Izutsu H, Kodama K, Nakada M, Tse J, Russell M, Heyer J, Powers W, Sun R, Ring JE, Takabe K, Protopopov A, Ling Y, Okuda S and Lyle S: Genomic landscape of colorectal cancer in Japan: clinical implications of comprehensive genomic sequencing for precision medicine. *Genome Med* 8: 136, 2016. doi: 10.1186/s13073-016-0387-8.
- 4) Shimada Y, Yagi R, Kameyama H, Nagahashi M, Ichikawa H, Tajima Y, Okamura T, Nakano M, Nakano M, Sato Y, Matsuzawa T, Sakata J, Kobayashi T, Nogami H, Maruyama S, Takii Y, Kawasaki T, Homma KI, Izutsu H, Kodama K, Ring JE, Protopopov A, Lyle S, Okuda S, Akazawa K and Wakai T: Utility of comprehensive genomic sequencing for detecting HER2-positive colorectal cancer. *Hum Pathol* 66: 1-9, 2017.

3 癌遺伝子パネル検査がもたらす胃癌 Precision medicine の可能性

市川 寛

新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野（第一外科）

**Realizing Precision Medicine in Gastric Cancer :
Clinical Application of Cancer Gene Panel**

Hiroshi ICHIKAWA

Reprint requests to: Hiroshi ICHIKAWA
Division of Digestive and General Surgery,
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野（第一外科） 市川 寛