Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

免疫組織化学染色によるがん化学療法の感受性予測

鴨志田, 伸吾

(Citation)
電気泳動,61(2):124-127

(Issue Date)
2017

(Resource Type)
journal article

(Version)
Version of Record

(Rights)
© 2017 日本電気泳動学会. 利用は著作権の範囲内に限られる

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/90005225

電気泳動　2017；61：124
Doi:10.2198/electroph.61.124

〔特集：電気泳動が拓く生命科学〕
論文種目：総説

免疫組織化学染色によるがん化学療法の感受性予測

鴨志田　伸　吾＊

神戸大学大学院保健学研究科病態解析学領域

（受付 2017 年 5 月 10 日，受理 2017 年 6 月 1 日）

SUMMARY

Here, we review the utility of immunohistochemical (IHC) staining as a diagnostic assay in cancers. IHC staining for hormone receptors is used to select patients for hormonal therapy in breast cancers. IHC staining and fluorescent *in situ* hybridization (FISH) are well-established assays for overexpression of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) protein and amplification of the *HER2* gene, respectively; positive results indicate that targeted therapy with trastuzumab, the anti-HER2 antibody, is appropriate. Similarly, the anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitors, crizotinib and alectinib, can treat non-small cell lung cancers with *ALK* fusion genes, which are found through diagnostic assays that include IHC staining and FISH; and imatinib is effective for KIT-expressing gastrointestinal stromal tumors. IHC confirmation of target protein expression is also necessary before using targeted agents in hematologic malignancies: CD20 for rituximab, CD30 for brentuximab vedotin, and CC chemokine receptor-4 for mogamurizumab. IHC staining for programmed death-ligand 1 is used to identify non-small cell lung cancer patients who can respond to pembrolizumab, which targets programmed death-1. This review also discusses possible prediction of response to cytotoxic agents through IHC staining for solute carrier transporters, and the differences between IHC staining and western blotting.

Key words: immunohistochemical staining, cancer chemotherapy, companion diagnostics assay, companion biomarker, solute carrier transporter

はじめに

がん化学療法の個別化は，治療効果や予後の改善だけでなく，不合理的な治療の回避にもつながる．近年，がん化学療法の個別化を発展させる動きが加速度的に高まっており，治療効果を予測できるバイオマーカー（コンパニオン・バイオマーカー）の解明とその検出・診断技術（コンパニオン診断法）の重要性が強調されている．現在では，免疫組織化学（IHC）染色と遺伝子変異解析を中心としたコンパニオン診断法が応用されている．しかし，電気泳動を利用した western blot（WB）法と IHC 染色は，抗原抗体反応を利用して抗原蛋白を特異的に可視化する点では共通した技術であるため，本稿では IHC 染色に焦点をあてて論じることとする．

抗がん剤（化学療法剤）には殺細胞性抗がん剤（代謝拮抗剤，アルキル化剤，プラチナ製剤，植物アルカロイド，抗生物質製剤），ホルモン（内分泌）療法剤や分子標的薬剤などがある．IHC 染色がコンパニオン診断法として利用されている薬剤について Table 1 にまとめた．これらの薬剤はホルモン療法剤や分子標的薬剤に分類されるものである．

ホルモン療法剤のコンパニオン診断法としての IHC 染色

乳がんは，ホルモン受容体（estrogen receptor 及び progesterone receptor）発現と human epidermal growth factor receptor type 2（HER2）遺伝子増幅・蛋白過剰発現を軸としたサブタイプ分類に基づいて化学療法が個別化される．乳がんに対するホルモン療法剤は，作用機序によって抗エ

Prediction of response to cancer chemotherapy using immunohistochemical staining
Shingo Kamoshida
Department of Medical Biophysics, Kobe University Graduate School of Health Sciences
＊ Corresponding author: Shingo Kamoshida; Department of Medical Biophysics, Kobe University Graduate School of Health Sciences; 7-10-2 Tomogaoka, Suma, Kobe, Hyogo 654-0142, Japan
E-mail: skamo@harbor.kobe-u.ac.jp
第68回総会シンポジウムセッション 5：電気泳動法を用いた悪性腫瘍の診断や予後予測，治療効果予測への応用

Table 1 Immunohistochemical staining as a companion diagnostic assay

Anticancer agent	Cancer	Companion diagnostic assay
Tamoxifen, goserelin, etc.	Breast cancer	Estrogen receptor expression
Trastuzumab, pertuzumab, etc.	Breast cancer	HER2 overexpression/amplification*
Crizotinib, alectinib, etc.	NSCLC	ALK expression/fusion gene*
Imatinib	GIST	KIT expression
Rituximab	NHL	CD20 expression
Brentuximab vedotin	Hodgkin lymphoma, ALCL	CD30 expression
Mogamurizumab	ATLL	CCR4 expression
Pembrolizumab	NSCLC	PD-L1 expression

**HER2* gene amplification and *ALK* fusion gene are assessed using fluorescence *in situ* hybridization.
ALCL: anaplastic large cell lymphoma; ALK: anaplastic lymphoma kinase; ATLL: adult T-cell leukemia/lymphoma; CCR4: CC chemokine receptor-4; GIST: gastrointestinal stromal tumor; HER2: human epidermal growth factor receptor-2; NHL: non-Hodgkin lymphoma; NSCLC: non-small cell lung cancer; PD-L1: programmed death-ligand 1.

ストロゲン剤，LH-RH アゴニスト及びアロマターゼ阻害剤に分類される．ホルモン療法剤のコンパニオン診断法はホルモン受容体の IHC 染色[1]である．すなわち，IHC 染色によってホルモン受容体陽性と判定された乳がんにホルモン療法剤が使用される．

分子標的薬剤のコンパニオン診断法としての IHC 染色

分子標的薬剤とはがん細胞の増殖，シグナル伝達，免疫回避などに関わる標的分子を特異的に阻害する薬剤で，抗体製剤と低分子化合物に大別される．抗体製剤は高分子であるため，細胞膜を通過できない．したがって，抗原抗体反応を利用して，主に細胞膜上のターゲットに結合する．抗体製剤は，1）標的分子（抗原）に結合することによって，その機能を阻害する，2）抗体依存性細胞傷害作用（antibody-dependent cellular cytotoxicity，ADCC）や補体依存性細胞傷害作用（complement-dependent cytotoxicity，CDC）といった免疫反応によって，標的分子を発現する細胞を除去する，といった機序で薬効を発揮する．一方，分子量が小さい低分子化合物は細胞内へ入り込んで，受容体の細胞内酵素活性部位や細胞内シグナル伝達分子の機能を阻害する．

分子標的薬剤のターゲットには，増殖因子受容体，細胞内シグナル伝達分子，リンパ球表面抗原や免疫チェックポイント分子などがある．

1. 増殖因子受容体をターゲットとした分子標的薬剤とコンパニオン診断法

分子標的薬剤のターゲットとなる増殖因子受容体は受容体型チロシンキナーゼに分類される．受容体型チロシンキナーゼは 3 つの共通した構造，すなわち細胞外ドメイン，細胞膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインをもつ．受容体型チロシンキナーゼに属する代表的分子として，epidermal growth factor receptor，HER2，anaplastic lymphoma kinase（ALK），KIT，platelet-derived growth factor receptor（PDGFR），MET，RET などがあげられる[2]．

一部（20 ～ 30％）の乳がんや胃がんでは，*HER2* 遺伝子の増幅に伴い，HER2 蛋白が過剰発現している．代表的な HER2 阻害剤である trastuzumab は HER2 蛋白に対する抗体製剤で，HER2 の細胞外ドメインに結合し，単球及び NK 細胞の Fc 受容体を介した ADCC を誘導する，あるいは HER2 下流のシグナル伝達を阻害することによって抗腫瘍効果を示す．Trastuzumab は HER2 過剰発現が確認された乳がんや治癒切除不能な進行・再発の胃がんに使用されるが，その適応条件である HER2 過剰発現は，蛋白過剰発現（IHC 染色）と *HER2* 遺伝子増幅（*in situ* hybridization 法）の両面から評価される[3]．

再発・転移非小細胞肺がんの中の非扁平上皮がん（主に腺がん）に対しては，分子標的薬剤が治療アルゴリズムに加えられている．非小細胞肺がんの一部では，*ALK* 遺伝子と他の遺伝子の転座融合（*ALK* 融合遺伝子）が検出される．Crizotinib，alectinib などの ALK 阻害剤は，ALK チロシンキナーゼをターゲットとした低分子化合物で，*ALK* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発非小細胞肺がんに著明な効果を示す．ALK 阻害剤使用のためのコンパニオン診断法として，IHC 染色（発現が上昇した ALK 蛋白を検出），FISH 法（*ALK* 遺伝子の切断を検出）などがある[4]．

消化管間質腫瘍 gastrointestinal stromal tumor（GIST）の約 90％には *KIT* 遺伝子変異が，約 5％には *PDGFRα* 遺伝子変異が認められ，それぞれのチロシンキナーゼ活性が亢進している[5]．Imatinib は KIT や PDGFR のチロシンキナーゼを阻害する低分子化合物で，KIT 陽性 GIST に対して著明な効果を発揮する[5]．なお，imatinib はフィラデルフィア染色体をもつ白血病などにも使用される．

2. リンパ球表面抗原をターゲットとした分子標的薬剤とコンパニオン診断法

Rituximab は CD20 抗原に対する抗体製剤で，細胞表面にある CD20 に結合し，ADCC および CDC により薬効を発揮する[6]．Rituximab の使用は CD20 陽性の B 細胞性非ホジキンリンパ腫に承認されており，IHC 染色とフローサイトメトリー法によって CD20 の発現が評価される．一方，brentuximab vedotin は抗 CD30 抗体に微小管阻害剤を結合させた抗体薬物複合体で，CD30 陽性の再発又は難治性のホジキンリンパ腫・未分化大細胞リンパ腫への使用が承認されている．また，C-C chemokine receptor 4（CCR4）をターゲットとする抗体製剤である mogamurizumab は，CCR4 陽性の成人 T 細胞白血病リンパ腫などに使用される．Brentuximab vedotin や mogamurizumab のコンパニオン診断においても IHC 染色が重要な役割を担っている．

3. 免疫チェックポイント分子をターゲットとした分子標的薬剤とコンパニオン診断法

ヒトには，自己に対する過剰な免疫反応をコントロールするための免疫チェックポイント機構が備わっている．たとえば，T 細胞の細胞膜上に発現する programmed death 1（PD-1）が対応するリガンド programmed death-ligand 1（PD-L1）と結合することで，免疫反応が鎮静化される．しかし，腫瘍浸潤性の T 細胞では PD-1 が高発現しており，がん細胞は抗腫瘍免疫応答から逃れる手段としてしばしば PD-L1 を過剰に発現している．Pembrolizumab は抗 PD-1 抗体製剤で，PD-1 を阻害し，PD-L1 との結合をブロックする．それによって T 細胞の活性化を維持し，細胞傷害活性を増強させる．本剤は根治切除不能な悪性黒色腫及び PD-L1 陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺がんに対して承認されており，後者のコンパニオン診断法として PD-L1 の IHC 染色が利用される（PD-1 阻害剤の適応を PD-L1 の発現で判断する）[7]．PD-L1 の IHC 染色を実施するにあたっては，指定された自動免疫染色装置を用いることまで条件付けられている．

IHC 染色による殺細胞性抗がん剤の感受性予測

殺細胞性抗がん剤を適応判定できるコンパニオン診断法は確立されていない．著者の研究室では，殺細胞性抗がん剤の効果予測マーカーとして solute carrier（SLC）トランスポーターに着目している．SLC トランスポーターは，ATP 加水分解エネルギーを利用せずに薬物，栄養物質などの取込輸送を行なう（すなわち，ATP-binding cassette トランスポーターとは対照的な特性をもつ）．SLC トランスポーターには約 380 遺伝子，52 ファミリーが同定されているが，それらの中には殺細胞性抗がん剤の体内動態，ひいては薬効発現の規定因子になっているものがある[8]．著者らが論文発表してきた SLC トランスポーター研究のうち，代表的なものを以下に紹介する．

1. 胃・大腸がん

まず，進行大腸がんの化学療法前生検組織を対象として，5-fluorouracil（5-FU）の取込みに関与する organic anion transporter 2（OAT2）の発現レベルと UFT（5-FU プロドラッグ）による術前化学療法の効果との関連性を解析した[9]．その結果，OAT2 高発現は病理組織学的治療効果と有意に相関し，かつ独立した治療効果予測因子であった．

次いで，5-FU+leucovorin+oxaliplatin（FOLFOX）によるファーストライン治療を受けた転移性大腸がん患者について，OAT2 及び organic cation transporter 2（OCT2；oxaliplatin の取込みを担う）の発現レベルを明らかにし，客観的腫瘍縮小効果 objective tumor response（OTR）及び無増悪生存期間 progression-free survival（PFS）の予測因子としての有効性を評価した[10,11]．OAT2 高発現は OTR 良好，OCT2 高発現は PFS 延長の独立予測因子であった．さらに，OAT2 と OCT2 の両者が高発現を示す症例群は，最も良好な治療効果（OTR 良好かつ PFS 延長）を示す割合が高かった．

また，胃がん組織における OCT2 の発現レベルと S-1＋シスプラチンによる術前化学療法の効果との関連についても解析した[12]．その結果，OCT2 高発現は病理組織学的治療効果と有意に相関しており，さらに唯一の独立した効果予測因子であることが証明された．

2. 乳がん

ホルモン受容体陰性かつ HER2 陰性の乳がん（いわゆるトリプルネガティブ乳がん）にはホルモン療法剤や HER2 阻害剤が適応されないため，殺細胞性抗がん剤が治療の主体となる．著者らは，epirubicin+paclitaxel をベースとした術前化学療法を受けた進行乳がん患者の化学療法前生検組織を対象に，organic cation transporter 6（OCT6；epirubicin の取込みを担う）及び organic anion-transporting polypeptide 1A2（OATP1A2；paclitaxel の取込みを担う）の発現レベルと化学療法の効果の関連性を解析した[13]．その結果，OATP1A2 高発現＋OCT6 高発現を示すトリプルネガティブ乳がんは病理学組織学的治療効果が有意に高く，OATP1A2 高発現＋OCT6 高発現は唯一の独立した効果予測因子であることが示された．

以上のように，SLC トランスポーターの発現レベルを解析することによって，殺細胞性抗がん剤を用いた化学療法の効果を予測できる可能性がある．しかし，これらのデータは限られた症例数の後向き研究に基づいているため，今後は大規模多施設研究による検証が必要である．

IHC 染色と WB 法

IHC 染色と WB 法はともに，抗原抗体反応を利用して抗原蛋白を特異的に可視化することを主軸としているが，異なる点も多い．すなわち，① IHC 染色では細胞・組織の状態で標本化する（そのため，抗原蛋白の細胞・組織内局在を見極められる）のに対し，WB 法では細胞・組織を破砕する，② WB 法では蛋白を電気泳動で分離するが，IHC 染色にはこの操作はない，③ IHC 染色では細胞・組織をスライドガラスへ貼付するが，WB では分離した蛋白をゲルからメンブレンへ転写する，④ WB 法の検出系としては化学発光法（高感度），発色法及び蛍光法があるが，IHC 染色に化学発光法はない，⑤ WB 法では抗原蛋白の定量的データや分子量を知ることができるが，IHC 染色ではこれらが不可能である，⑥ IHC 染色は自動化されており，一般の医療施設にも普及しているが，WB 法はそうではない．

IHC 染色がコンパニオン診断法として利用されるのは，上記①の理由によるところが最も大きいと考えられる．一方で，抗体の特異性を判定できる WB 法は，コンパニオン診断薬を開発する段階で重要な役割を担っている．

おわりに

ゲノム解析技術の進展により，遺伝子情報に基づいた個別化医療の実現に向けた動きが加速してきた．しかし，抗がん剤のターゲットが蛋白である以上，コンパニオン診断における IHC 染色と WB 法の役割が消え失せることはない．

本論文に関して開示すべき利益相反状態はない．

文　献

1) Yaziji H, Taylor CR, Goldstein NS, *et al.* Consensus recommendations on estrogen receptor testing in breast cancer by immunohistochemistry. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2008;16:513–520.
2) Medinger M, Drevs J. Receptor tyrosine kinases and anticancer therapy. Curr Pharm Des. 2005;11:1139–1149.
3) Ross JS. Update on HER2 testing for breast and upper gastrointestinal tract cancers. Biomark Med. 2011;5:307–318.
4) Lee JA, Bubendorf L, Stahel R, *et al.* Testing for anaplastic lymphoma kinase rearrangement to target crizotinib therapy: oncology, pathology and health economic perspectives. Expert Rev Anticancer Ther. 2013;13:625–636.
5) Croom KF, Perry CM. Imatinib mesylate: in the treatment of gastrointestinal stromal tumours. Drugs 2003;63:513–522.
6) Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. Oncogene 2003;22:7359–7368.
7) Ma W, Gilligan BM, Yuan J, *et al.* Current status and perspectives in translational biomarker research for PD-1/PD-L1 immune checkpoint blockade therapy. J Hematol Oncol. 2016;9:47.
8) Sprowl JA, Mikkelsen TS, Giovinazzo H, *et al.* Contribution of tumoral and host solute carriers to clinical drug response. Drug Resist Updat. 2012;15:5–20.
9) Nishino S, Itoh A, Matsuoka H, *et al.* Immunohistochemical analysis of organic anion transporter 2 and reduced folate carrier 1 in colorectal cancers: significance as a predictor of response to oral uracil/ftorafur plus leucovorin chemotherapy. Mol Clin Oncol. 2013;1:661–667.
10) Tatsumi S, Matsuoka H, Hashimoto Y, *et al.* Organic cation transporter 2 and tumor budding as independent prognostic factors in metastatic colorectal cancer patients treated with oxaliplatin-based chemotherapy. Int J Clin Exp Pathol. 2014;7:204–212.
11) Tashiro A, Tatsumi S, Takeda R, *et al.* High expression of organic anion transporter 2 and organic cation transporter 2 is an independent predictor of good outcomes in patients with metastatic colorectal cancer treated with FOLFOX-based chemotherapy. Am J Cancer Res. 2014;4:528–536.
12) Naka A, Takeda R, Shintani M, *et al.* Organic cation transporter 2 for predicting cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy response in gastric cancer. Am J Cancer Res. 2015;5:2285–2293.
13) Hashimoto Y, Tatsumi S, Takeda R, *et al.* Expression of organic anion-transporting polypeptide 1A2 and organic cation transporter 6 as a predictor of pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2014;145:101–111.