

# CLDN18 タンパク免疫染色(免疫抗体法) 病理組織標本作製について

Companion diagnostic for claudin18.2 targeted therapy

うし く てつ お  
牛 久 哲 男  
Tetsuo USHIKU

## はじめに

2024年6月、切除不能な局所進行性または転移性の胃・食道胃接合部腺癌に対し、抗 Claudin (CLDN) 18.2 抗体薬 (ゾルベツキシマブ) が本邦において世界に先駆け臨床応用開始となった。ゾルベツキシマブは、第 III 相試験である SPOTLIGHT 試験および GLOW 試験で、フッ化ピリミジンとプラチナ製剤の併用療法をベースとした化学療法に上乘せすることで、有意に無増悪生存期間および全生存期間が延長することが示されたことが承認根拠となった<sup>1,2)</sup>。ゾルベツキシマブ治療に先立ち、胃癌組織における CLDN18 の発現を確認することが必須である。本項では、胃癌へのゾルベツキシマブ投与の適応を決めるための CLDN18 タンパク免疫染色 (免疫抗体法) 病理組織標本作製、およびコンパニオン診断判定方法について解説する。

## I. CLDN18.2の基本

Claudin (CLDN) は細胞間のタイトジャンクションの形成に関わる主要な膜貫通蛋白質である。CLDN18 には、CLDN18.1 および CLDN18.2 の 2 種類のスプライズバリエーションが知られている。正常では、CLDN18.1 は II 型肺胞上皮細胞、CLDN18.2 は胃上皮細胞に特異的に発現するとされている。正常の胃では基本的にすべての上皮 (腺窩上皮や固有腺) に CLDN18 の強い発現がみられる (図 1)<sup>3)</sup>。ピロリ胃炎等により生じる胃の腸上皮化生においては、不完全型腸上皮化生ではさまざまな程度に CLDN18.2 発現がみ

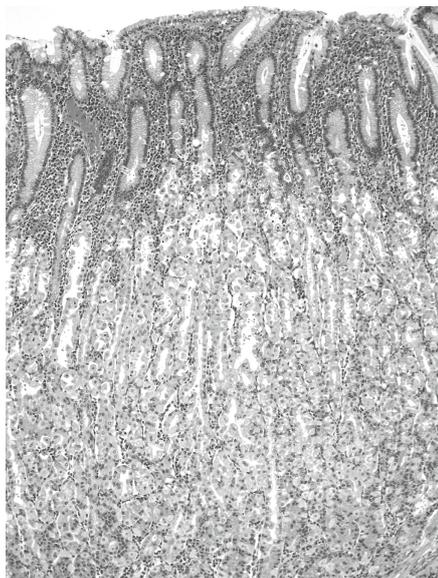
られ、完全型腸上皮化生では CLDN18.2 発現はみられない (図 2)。胃上皮や胃癌において発現している CLDN18 は、基本的には CLDN18.2 で、CLDN18.1 の発現は考慮せず問題ないと考えられていることから、胃癌における CLDN18.2 発現を評価するためのコンパニオン診断としては、CLDN18.1 と CLDN18.2 の両者を認識する抗 CLDN18 抗体が用いられる。

## II. 抗CLDN18.2抗体薬ゾルベツキシマブ

ゾルベツキシマブは、CLDN18.2 を標的として結合するキメラ IgG1 モノクローナル抗体である。ゾルベツキシマブが、胃癌細胞表面の CLDN18.2 に結合することにより、抗体依存性細胞傷害 (Antibody-dependent cellular cytotoxicity: ADCC) や補体依存性細胞傷害 (complement-dependent cytotoxicity: CDC) という免疫系経路を活性化することにより、癌細胞死を誘導することで薬効を発揮する。ADCC とは、細胞表面の抗原に抗体が結合した際に、抗体の Fc 領域 (抗体の Y 字の根本部分) を認識する Fc 受容体をもったマクロファージや NK 細胞が集まり、細胞傷害分子などさまざまな物質を分泌し、抗体が結合している細胞を殺傷する活性を指す。CDC とは、細胞に抗体が結合して誘導された補体カスケードの活性化により、細胞が破壊される免疫反応を指す。

CLDN18.2 は、正常の胃上皮に発現しているが、細胞同士が密着するタイトジャンクションに局在しているため、高分子の抗体薬はそこまで到達できず正常胃上皮は傷害されない一方、癌細胞では細胞相互の結

a



b

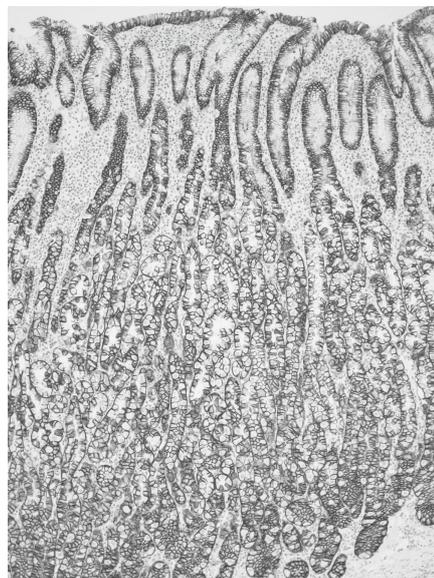


図1 正常胃粘膜における CLDN18 免疫組織化学染色像

- a. 胃底腺領域の粘膜の HE 染色像  
 b. 同領域の CLDN18 免疫組織化学染色像。表層の腺窩上皮から深部の胃底腺まで含め、すべての上皮細胞で強陽性を示す。

(図1は巻末カラーで掲載しています)

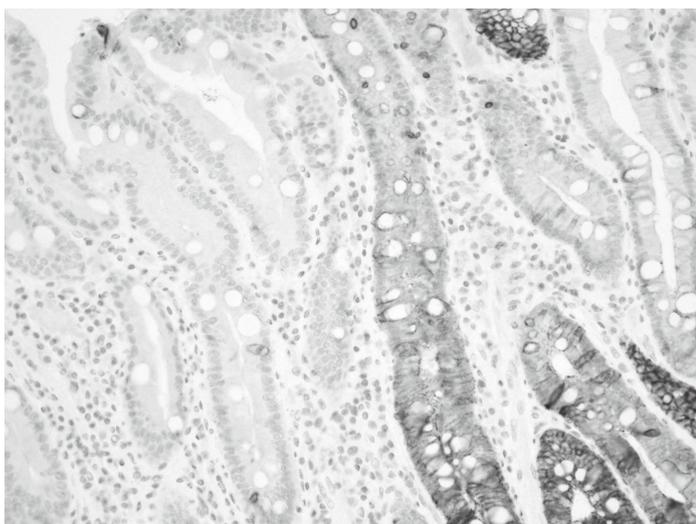


図2 腸上皮化生胃粘膜における CLDN18 免疫組織化学染色像

完全型腸上皮化生（左側半分）ではほぼ完全に陰性、不完全型腸上皮化生（右側半分）では弱～中程度の陽性像を示す。このような非腫瘍性上皮の染色性を基準として、癌部での染色性評価を行う。

(図2は巻末カラーで掲載しています)

合性低下や極性の乱れにより CLDN18.2 が表面に露出しているため抗体薬が結合し、癌細胞のみが傷害されるとされている。ただし、ゾルベツキシマブの副作用としては悪心、嘔吐といった胃症状の頻度が高いため、ゾルベツキシマブによる正常胃上皮傷害作用もある程度は存在する可能性が示唆されている。

### Ⅲ. CLDN18 タンパク免疫染色(免疫抗体法) 病理組織標本作製とコンパニオン診断

前述の通り、胃癌で発現する CLDN18 は、CLDN18.2 と考えて良いため、CLDN18.1 および CLDN18.2 を共に認識する抗 CLDN18 抗体がコンパニオン診断で用いられる。製造販売承認されているキットは「ベントナ OptiView CLDN18 (43-14A)」で、一次抗体「ベントナ CLDN18 (43-14A) RxDx」および検出試薬「ベントナ OptiView DAB ユニバーサルキット」で構成される。免疫組織化学染色を行う装置は、ベンチマーク ULTRA PLUS、ULTRA、XT、GX が承認されている。胃癌検体の固定条件は、10%中性緩衝ホルマリンにて、6～48 時間の固定が推奨されている。

CLDN18 タンパク免疫染色(免疫抗体法) 病理組織標本作製に対する保険点数は 2,700 点である。

コンパニオン診断の判定基準は、中程度～強い染色が細胞膜にみられる腫瘍細胞が 75% 以上の場合に CLDN18 陽性と判定し、それ以外の場合は陰性と判定される。対象となる胃癌検体は、生検と手術検体のどちらでもよく、同一の判定基準を用いる。ただし、判定には 50 個以上の腫瘍細胞が必要であるため、HE 染色で病理医が 50 個以上の腫瘍細胞が含まれるブロックを選択して、CLDN18 染色を行う必要がある。

CLDN18 染色の判定においては、癌細胞の細胞膜への染色のみを評価する。必ずしも全周性でなくとも中程度以上の細胞膜に局在する染色がみられれば、陽性細胞と判定する。染色強度の評価は、非腫瘍性胃上皮をコントロールとして行う。正常の胃上皮にみられる強い染色性、不完全型腸上皮化生でみられる正常腺窩上皮よりもやや薄い中程度の染色性、不完全型腸上皮化生でみられるより薄い弱い染色性を基準として、中程度以上の染色性を示す腫瘍細胞割合を確認し、75% 以上であれば陽性と判定する (図 3)。

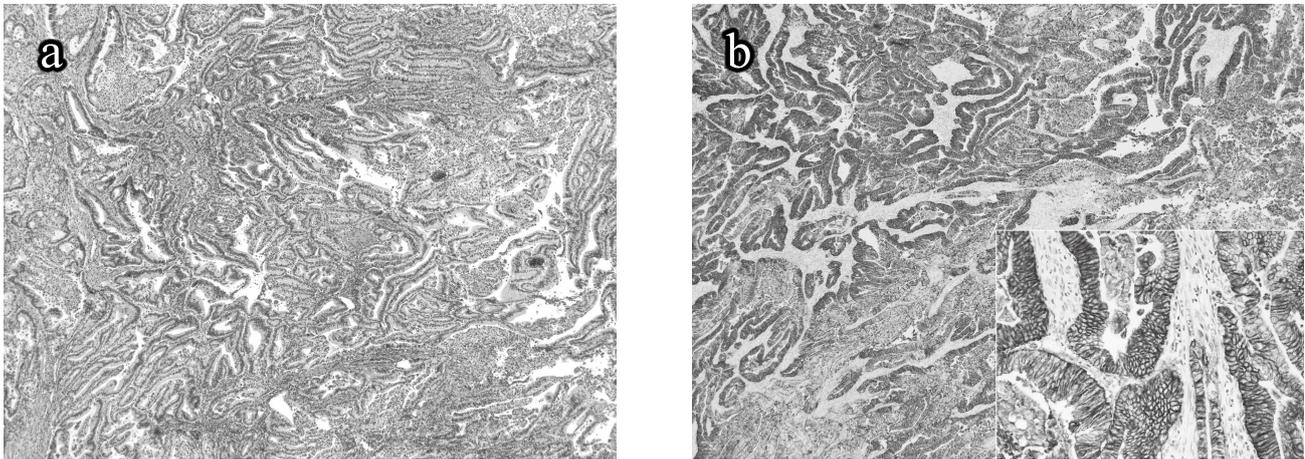


図 3 CLDN18 陽性胃癌の例

- 弱拡大の HE 像。複雑な管状構造をなす管状腺癌の例。
- 同一視野の CLDN18 免疫組織化学染色像。腫瘍のほぼ全体に CLDN18 陽性像がみられる。強拡大 (inset) では細胞膜に局在する中程度～強い染色性が確認できる。本症例は全体としては 90% の腫瘍細胞で中程度以上の陽性を示し、CLDN18 陽性と判定。

(図 3 は巻末カラーで掲載しています)

## おわりに

胃癌における CLDN18 の陽性率は、24～34%と報告されている<sup>4,5)</sup>。胃癌患者予後と CLDN18 発現に有意な相関はないとする報告が多いが、CLDN18 陽性率は、Lauren 分類による組織型別でみると腸型 (Intestinal type) よりもびまん型 (Diffuse type) でやや高い傾向がある<sup>6-8)</sup>。びまん型胃癌は HER2 陽性率が低く、抗 HER2 抗体薬の適応となりにくいことから、ゾルベツキシマブは HER2 陰性胃癌におけるアンメットニーズを満たす薬剤としての期待が高い。特に、びまん型胃癌は腹膜播種をきたしやすく、腹膜播種陽性の胃癌患者の予後は不良である。腹膜播種陽性胃癌における原発巣と播種巣の CLDN18 陽性率は、原発巣での陽性率は 29%に対し、播種巣では 20%とやや低下していたものの、原発巣と播種巣での CLDN18 陽性・陰性の一致率は 75%であり、原発巣の生検評価で播種巣の CLDN18 発現状態を概ね評価可能と考えられる<sup>9)</sup>。今後、腹膜播種陽性胃癌に対するゾルベツキシマブの有効性等についてもデータが蓄積され明らかになっていくであろう。

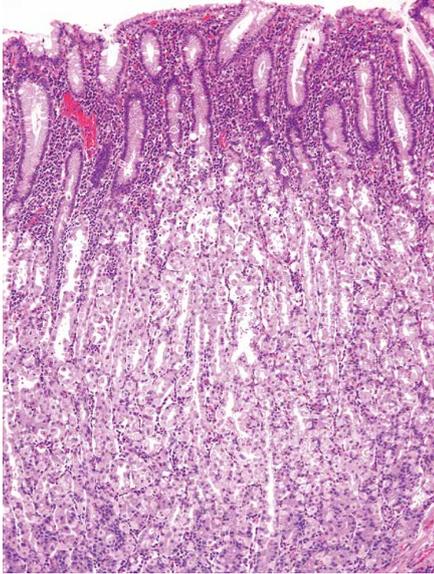
現在のガイドラインで推奨される切除不能な局所進行性または転移性の胃癌の一次治療としては、いずれも化学療法との併用で、HER2 陽性胃癌に対する抗 HER2 抗体薬、HER2 陰性胃癌に対する抗 CLDN18.2 抗体薬に加え、免疫チェックポイント阻害薬 (抗 PD-1 抗体薬) が選択肢となる。最適な治療方法を選択するためには、病理検体を用いたバイオマーカー検査が不可欠である。日本胃癌学会では、「切除不能進行・再発胃癌バイオマーカー検査の手引き」を作成し、2024 年 4 月に発出、同 8 月に更新している<sup>10)</sup>。ここでは、限られた病理検体を効率的に使用し、患者にいち早く最適な治療を届けるため、同時に 4 つのバイオマーカー検査 (HER2 テスト、CLDN18 テスト、MSI/MMRs テスト、PD-L1 テスト) の実施を第一に推奨している。今後も胃癌の一次治療の選択肢は増えていく見込みであり、それに対応した的確なバイオマーカーの実施がますます重要となるため、病理部門には標本作成における精度管理や適切な判定を行うためのトレーニングが求められる。

## 文 献

- 1) Shitara K, Lordick F, Bang YJ, et al. Zolbetuximab plus mFOLFOX6 in patients with CLDN18.2-positive, HER2-negative, untreated, locally advanced unresectable or metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (SPOTLIGHT): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet*. 2023 May 20;401(10389):1655-1668.
- 2) Shah MA, Shitara K, Ajani JA, et al. Zolbetuximab plus CAPOX in CLDN18.2-positive gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: the randomized, phase 3 GLOW trial. *Nat Med*. 2023 Aug;29(8):2133-2141.
- 3) Shinozaki A, Ushiku T, Morikawa T, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a distinct carcinoma of gastric phenotype by claudin expression profiling. *J Histochem Cytochem*. 2009 Aug;57(8):775-785.
- 4) Kubota Y, Kawazoe A, Mishima S, et al. Comprehensive clinical and molecular characterization of claudin 18.2 expression in advanced gastric or gastroesophageal junction cancer. *ESMO Open*. 2023 Feb;8(1):100762.
- 5) Pellino A, Brignola S, Riello E, et al. Association of CLDN18 Protein Expression with Clinicopathological Features and Prognosis in Advanced Gastric and Gastroesophageal Junction Adenocarcinomas. *J Pers Med*. 2021 Oct 26;11(11):1095.
- 6) Coati I, Lotz G, Fanelli GN, et al. Claudin-18 expression in oesophagogastric adenocarcinomas: a tissue microarray study of 523 molecularly profiled cases. *Br J Cancer*. 2019 Jul;121(3):257-263.
- 7) Shitara K, Xu RH, Ajani JA, et al. Global prevalence of claudin 18 isoform 2 in tumors of patients with locally advanced unresectable or metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Gastric Cancer*. 2024 Sep;27(5):1058-1068.
- 8) Baek JH, Park DJ, Kim GY, et al. Clinical Implications of Claudin18.2 Expression in Patients With Gastric Cancer. *Anticancer Res*. 2019 Dec;39(12):6973-6979. doi: 10.21873/anticancer.13919. PMID: 31810969.
- 9) Ogawa H, Abe H, Yagi K, et al. Claudin-18 status and its correlation with HER2 and PD-L1 expression in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Gastric Cancer*. 2024 Jul;27(4):802-810.
- 10) 「切除不能進行・再発胃癌バイオマーカー検査の手引き」第 1.1 版. 日本胃癌学会 2024 年 8 月.

臨床検査アップデート 104  
CLDN18 タンパク免疫染色 (免疫抗体法)  
病理組織標本作製について 牛久哲男

a



b

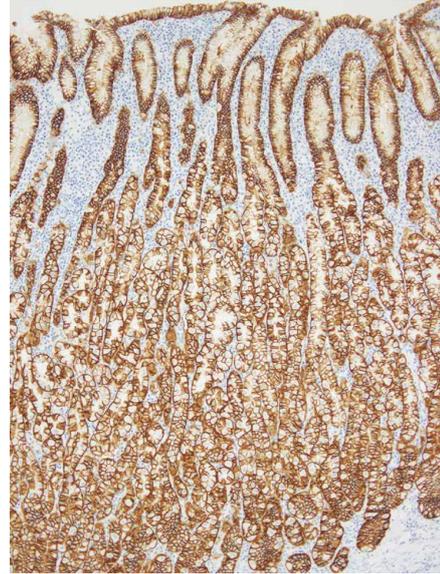


図 1 正常胃粘膜における CLDN18 免疫組織化学染色像

- a. 胃底腺領域の粘膜の HE 染色像
- b. 同領域の CLDN18 免疫組織化学染色像。表層の腺窩上皮から深部の胃底腺まで含め、すべての上皮細胞で強陽性を示す。

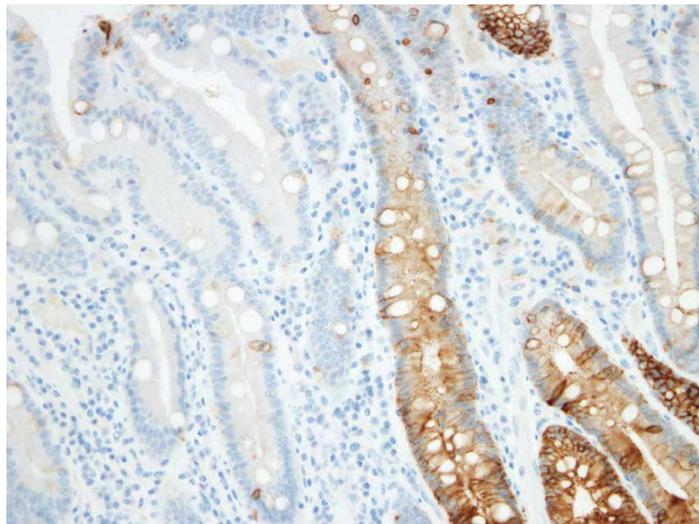


図 2 腸上皮化生胃粘膜における CLDN18 免疫組織化学染色像

完全型腸上皮化生 (左側半分) ではほぼ完全に陰性、不完全型腸上皮化生 (右側半分) では弱～中程度の陽性像を示す。このような非腫瘍性上皮の染色性を基準として、癌部での染色性評価を行う。

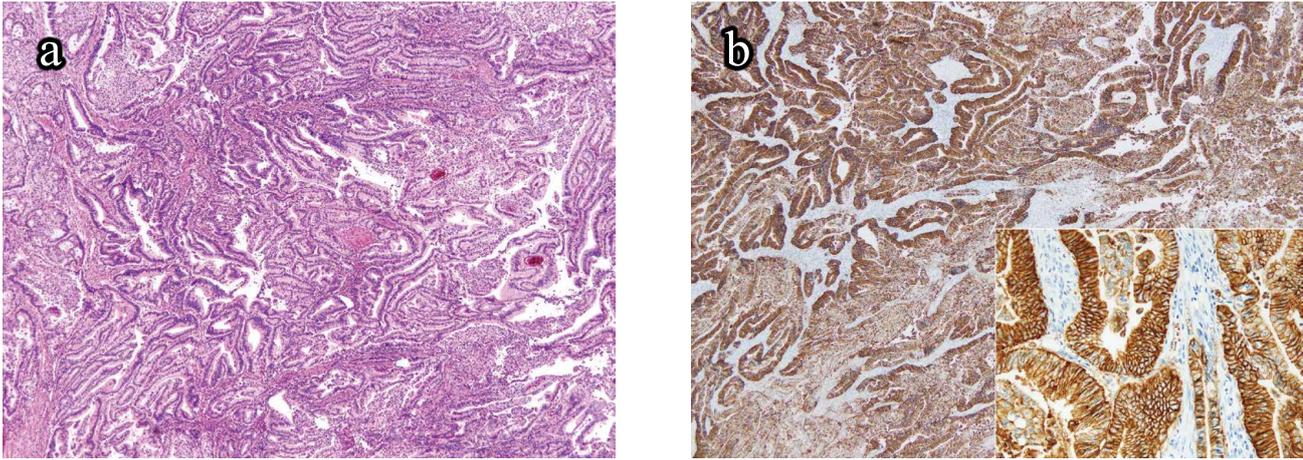


図3 CLDN18陽性胃癌の例

- a. 弱拡大のHE像。複雑な管状構造をなす管状腺癌の例。
- b. 同一視野のCLDN18免疫組織化学染色像。腫瘍のほぼ全体にCLDN18陽性像がみられる。強拡大（inset）では細胞膜に局在する中程度～強い染色性が確認できる。本症例は全体としては90%の腫瘍細胞で中程度以上の陽性を示し、CLDN18陽性と判定。