

Niniejszy materiał został opracowany z wykorzystaniem narzędzi opartych na sztucznej inteligencji. Całość treści została zweryfikowana i zatwierdzona w ramach przeglądu medycznego, prawnego i regulacyjnego. Astellas Pharma ponosi pełną odpowiedzialność za zgodność materiału z obowiązującymi przepisami.
Grafika wygenerowana z użyciem AI na podstawie danych źródłowych.

Klaudyna (CLDN) 18.2

– wprowadzenie

Barwienie immunohistochemiczne w raku żołądka

Niniejszy przewodnik zawiera informacje na temat CLDN18.2 jako biomarkera w raku żołądka/połączenia żołądkowo-przełykowego, a także metody barwienia immunohistochemicznego stosowanej do wykrywania CLDN18.2.



Opracowane przez patologów dla patologów

Strona CLDN18.2: www.cldn182.pl

Data opracowania: Sierpień 2026

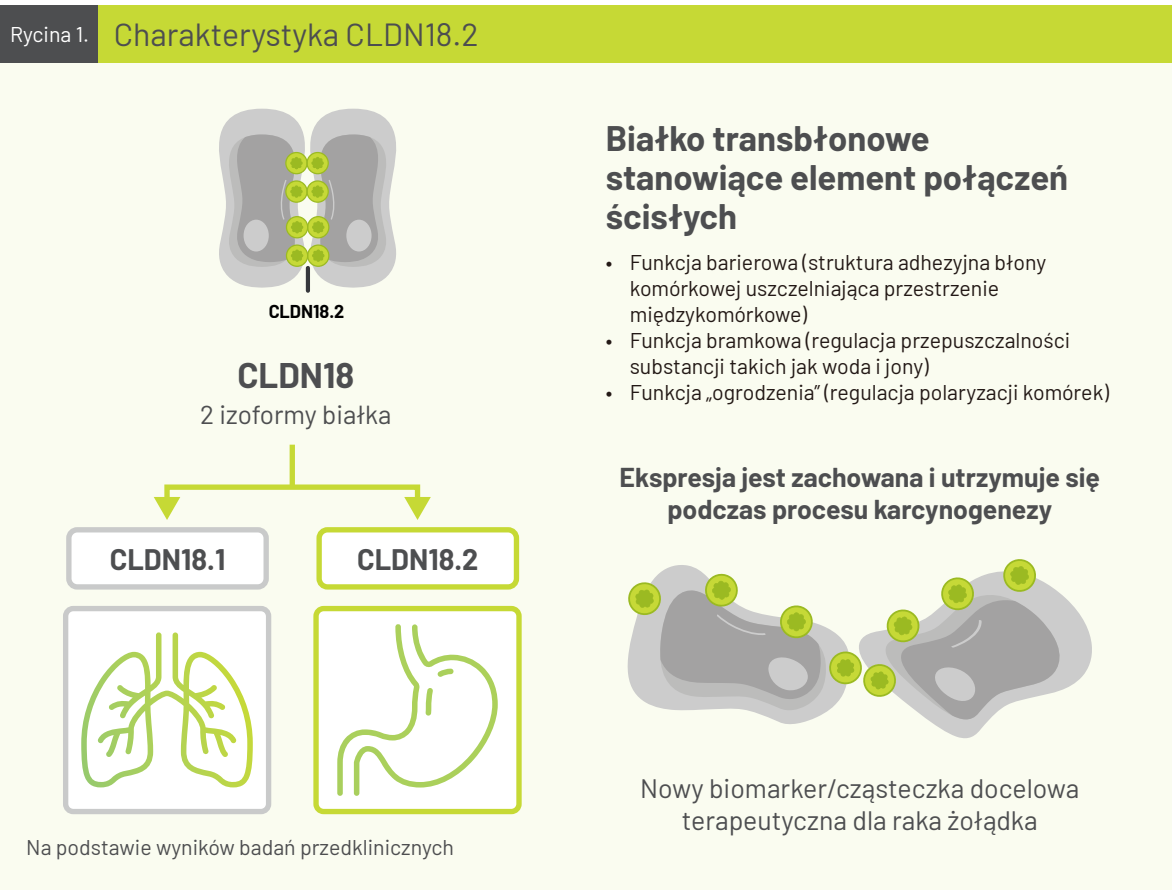
MAT-PL-NON-2026-00004 | Sierpień 2026

Opracowano we współpracy z National Research and Development Corporation National Cancer Research:
dr Ken Kuwata – Dyrektor Zakładu Diagnostyki Genetycznej, East Hospital



Rola kładyny 18.2 jako nowego biomarkera w raku żołądka

- Kładyna (CLDN), odkryta przez Shoichiro Tsukitę i wsp., jest białkiem transbłonowym oraz jednym z głównych elementów strukturalnych połączeń ścisłych. CLDN uczestniczy w regulacji funkcji barierowej komórek nabłonkowych, przepuszczalności dla wody i jonów oraz utrzymaniu polaryzacji komórek^{1,2}
- Dotychczas opisano 27 podtypów CLDN³
- Kładyny występują w całym organizmie, jednak dwie specyficzne izoformy splicingowe CLDN18 są zlokalizowane w określonych typach tkanek^{4,5} (**Rycina 1**)
 - CLDN18.1 ulega ekspresji głównie w tkance gruczołakoraka płuca, a jej ekspresja w nowotworach żołądka i połączenia żołądkowo-przełykowego (G/GEJ) jest znikoma lub nie występuje⁶
 - CLDN18.2 ulega ekspresji w prawidłowych komórkach nabłonka żołądka. W raku żołądka ekspresja CLDN18.2 jest zachowana i obserwowana nie tylko w zmianach pierwotnych, lecz także w ogniskach przerzutowych⁴
- Na podstawie wyników badań przedklinicznych uważa się, że CLDN18.2 ulega ekspozycji podczas procesu karcynogenezy^{4,7}, a zastosowania kliniczne zaczynają potwierdzać znaczenie CLDN18.2 jako nowego biomarkera oraz cząsteczki stanowiącej cel terapeutyczny w raku żołądka



Badania CLDN18.2 w raku G/GEJ[†] metodą immunohistochemiczną (IHC)

- Przeciwciała przeciwko CLDN18 umożliwiają identyfikację, lecz nie pozwalają na rozróżnienie izoform CLDN18 – CLDN18.1 i CLDN18.2. Jednak podczas oceny tkanki nowotworowej raka G/GEJ barwienie można przypisać obecności CLDN18.2, ponieważ^{8,6}:
 - CLDN18.2 występuje fizjologicznie w nabłonku żołądka i często pozostaje obecna w tkance raka żołądka
 - CLDN18.1 ulega ekspresji głównie w gruczołakoraku płuca, a jej ekspresja w nowotworach G/GEJ jest znikoma lub nie występuje
- Do oceny ekspresji CLDN18.2 metodą IHC dostępnych jest kilka testów, przeciwciał i platform. Wybór testów i przeciwciał obejmuje między innymi*:

Nazwa	Firma	Nazwa klonu	Zastosowanie
Test VENTANA CLDN18 (43 14A) ⁸	Roche Diagnostics	43-14A	IVD
Rekombinowane przeciwciało przeciwko kładynie 18 ⁹	Abcam	43-14A	Wyłącznie do celów badawczych
PathPlus™ – przeciwciało przeciwko kładynie 18 ¹⁰	LSBio	LS-B16145	Wyłącznie do celów badawczych
Przeciwciało anty CLDN18 ¹¹	Novus Biologicals	NBP2-32002	Wyłącznie do celów badawczych

* Należy pamiętać, że lista przeciwciał/testów i platform nie jest wyczerpująca, a wymienione powyżej testy nie są obecnie zatwierdzone do diagnostyki towarzyszącej. Przy podejmowaniu decyzji klinicznych należy opierać się na wyniku odpowiedniego testu.

Interpretacja ekspresji CLDN18.2

- W ocenie ekspresji CLDN18.2 analizuje się zarówno intensywność wybarwienia błon komórek nowotworowych, jak i odsetek komórek nowotworowych wykazujących całkowite lub niecałkowite, podstawno-boczne albo boczne wybarwienie błon komórkowych¹²
- Podczas oceny należy uwzględnić cały przekrój guza¹²
- Metaplasja jelitowa błony śluzowej żołądka może być wykorzystywana jako tkanka kontrolna, ponieważ wykazuje⁸:
 - Silne wybarwienie błony prawidłowych komórek nabłonka żołądka
 - Słabe do umiarkowanego wybarwienie błony komórek nabłonkowych w obszarach metaplasji
 - Brak wybarwienia w blaszce właściwej błony śluzowej, limfocytach, mięśniach gładkich, naczyniach krwionośnych oraz nerwach obwodowych

Ogólne zasady oceny barwienia w kierunku CLDN18 ¹²⁻¹⁴ :	
Komórki uwzględniane w liczniku	Zdolne do przeżycia inwazyjne komórki nowotworowe wykazujące wybarwienie
Lokalizacja subkomórkowa	Błona komórkowa
Intensywność wybarwienia	Brak (0), słabe (1+), umiarkowane (2+) do silnego (3+)
Wzór wybarwienia	Apikalny, obwodowy (częściowy i całkowity), podstawno boczny/boczny oraz mikroluminalny
Mianownik wyniku	Całkowita liczba zdolnych do przeżycia inwazyjnych komórek nowotworowych: ≥ 50

ciąg dalszy na następnej stronie >>

[†] G (gastric cancer) – rak żołądka; GEJ (gastroesophageal junction) – połączenie żołądkowo-przełykowe.

Referencje: 1. Furuse M et al. J Cell Biol 1998; 141(7): 1539–1550. 2. Otani T, Furuse M. Trends Cell Biol 2020; 30(10): 805–817. 3. Zhu L et al. Front Immunol 2019; 10: 1441. 4. Sahin U et al. Clin Cancer Res 2008; 14(23): 7624–7634. (Wśród autorów niniejszego artykułu znajdują się pracownicy oraz członkowie rady doradczej firmy Ganymed Pharmaceuticals.). 5. Niimi T et al. Mol Cell Biol 2001; 21(21): 7380–7390. 6. Saito T et al. ESMO World Congress on Gastrointestinal Cancer 2021. Plakat #286. 7. Türeci O et al. Ann Oncol 2019; 30(9): 1487–1495. (Wśród autorów niniejszego artykułu znajdują się pracownicy oraz członkowie rady doradczej firmy Ganymed Pharmaceuticals.).

Referencje: 8. Ventana CLDN18 (43-14A) assay (ulotka dołączona do opakowania). Mannheim, Germany: Roche Diagnostics GmbH. 9. Recombinant Anti-Claudin18 antibody Overview Sheet, dostępne na stronie: <https://www.abcam.com/en-gb/products/primary-antibodies/claudin18-antibody-43-14a-ab314690>. Dostęp: czerwiec 2024. 10. PathPlus™ Claudin18 Antibody Specifications, dostępne na stronie: <https://www.lsbio.com/pathplus-antibodies/pathplus-cldn18-antibody-claudin-18-antibody-ihc-ls-b16145/789855>. Dostęp: czerwiec 2024. 11. Claudin-18 Antibody Product details, dostępne na stronie: <https://www.novusbio.com/products/claudin-18-antibody-nbp2-32002>. Dostęp: czerwiec 2024. 12. Pellino A et al. J Pers Med 2021; 11(11): 1095. 13. Rohde C et al. J Clin Oncol 2019; 49(9): 870–876. 14. Sahin U et al. Ann Oncol 2021; 32(5): 609–619. Materiały uzupełniające.

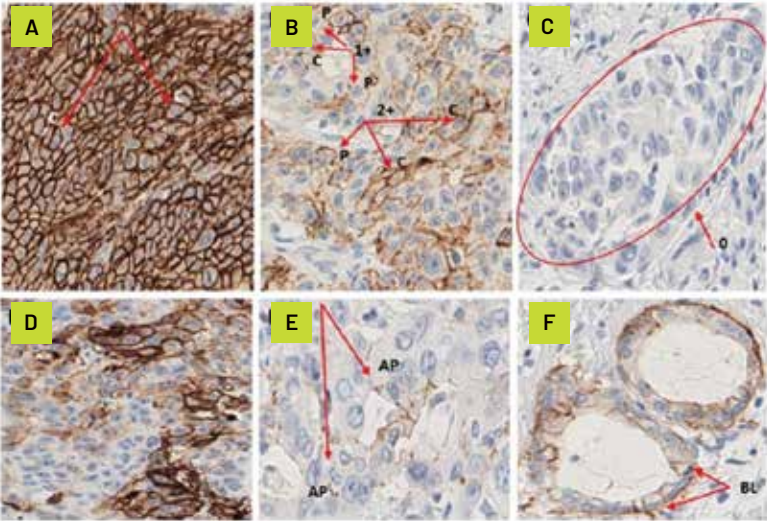
Interpretacja ekspresji CLDN18.2 (ciąg dalszy)

Intensywność wybarwienia CLDN18 w obrębie błony komórkowej klasyfikuje się zgodnie z następującymi kryteriami (Rycina 2)¹⁴⁻¹⁶



Przykłady barwienia w kierunku CLDN18 metodą IHC

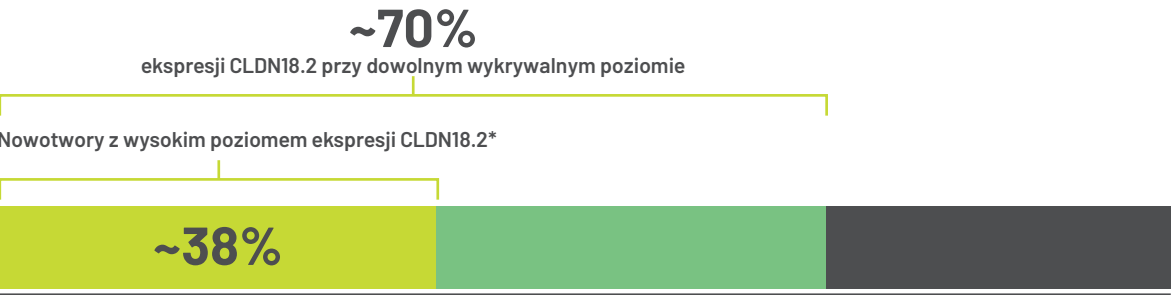
Test VENTANA (43-14A) na platformie VENTANA BenchMark Ultra¹⁷:



- Różne intensywności wybarwienia w teście IHC oraz wzory wybarwienia błon obserwowane przy zastosowaniu testu VENTANA (43-14A) na platformie VENTANA BenchMark Ultra:
- A** Silne (3+) całkowite obwodowe wybarwienie błon
 - B** Obszary częściowego (P) i całkowitego (C) wybarwienia błon o umiarkowanej (2+) lub słabej (1+) intensywności
 - C** Brak wybarwienia (0)
 - D** Niejednorodne wybarwienie z mieszaniną różnych intensywności i wzorów wybarwienia
 - E** Komórki wykazujące wybarwienie apikalne (AP)
 - F** Komórki wykazujące wybarwienie podstawno-boczne (BL)

Referencje: **15.** Dane w dokumentacji firmy Astellas. Obrazy barwienia w kierunku kładyny 18.2. MAT-ABC-ZOL-2023-00059. **16.** Cao W et al. Biomarker Res 2022; 10(1): 38. **17.** Jasani B et al. Lab Inv 2023; 104(1): 100284.

Częstość występowania CLDN18.2 i charakterystyka próbek w raku G/GEJ^{18,19†}



Odsetek pacjentów w badaniach fazy III

* W dwóch badaniach klinicznych fazy III dodatni status CLDN18.2 zdefiniowano jako obecność umiarkowanego do silnego wybarwienia błon w kierunku CLDN18 w $\geq 75\%$ komórek nowotworowych.

† G (gastric cancer) – rak żołądka; GEJ (gastroesophageal junction) – połączenie żołądkowo-przełykowe.

Wytyczne dotyczące etapu przedanalizycznego przed testem CLDN18.2^{8,20}

Konserwacja procesora tkankowego:

Wytyczne zalecają codzienną konserwację procesora tkankowego zgodnie z zaleceniami producenta oraz rygorystyczną kontrolę jakości odczynników procesora, w tym pH/czystości formaliny i zanieczyszczenia alkoholi wodą.

Czas zimnego niedokrwienia:

Zgodnie z aktualnymi wytycznymi czas zimnego niedokrwienia powinien być ograniczony do ≤ 60 minut. Przechowywanie nieutrwalonych próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas ma niekorzystny wpływ na ich jakość i wiarygodność wyniku. Należy to uwzględnić, jeśli próbki biopsyjne mają być transportowane do miejsca utrwalania lub badania.

Utrwalanie:

Wytyczne określają zalecenia dotyczące wymiarów próbek oraz czasu utrwalania.

Kluczowe wymagania:

Tkanka powinna być całkowicie zanurzona w środku utrwalającym. Należy zapewnić stosunek objętości utrwalacza do masy tkanki nie mniejszy niż 4:1, przy czym optymalny stosunek wynosi 10:1. Parafina powinna być stopiona w temperaturze $< 60^{\circ}\text{C}$. Probki powinny zawierać wystarczającą ilość tkanki nowotworowej do przeprowadzenia analizy.

Kluczowe czasy:

W ramach stabilizacji tkanki należy utrvalać w 10% obojętnie buforowanej formalinie przez 24 godziny, przy dopuszczalnym czasie utrwalania od 6 do 48 godzin.

Przygotowanie próbek:

Do badań metodą IHC nadają się rutynowo przetwarzane preparaty pochodzące z resekcji i biopsji, utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie (FFPE). Preparaty uzyskane metodą biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej (FNA), preparaty cytologiczne lub próbki pochodzące z przerzutów do kości nie kwalifikują się do barwienia CLDN18. Skrawki o grubości około 4 μm (w przedziale od 3 do 5 μm) należy umieszczać na dodatkowo naładowanych szkiełkach mikroskopowych. Tkankę należy wysuszyć na powietrzu poprzez pozostawienie szkiełek w temperaturze otoczenia na noc.

Warunki przechowywania:

Badania wskazują, że wysuszone na powietrzu skrawki tkankowe przechowywane w temperaturze pokojowej zachowują stabilność przez 45 dni. Każde laboratorium powinno zwalidować stabilność przechowywania skrawków na szkiełkach zgodnie z własnymi procedurami oraz warunkami środowiskowymi przechowywania.

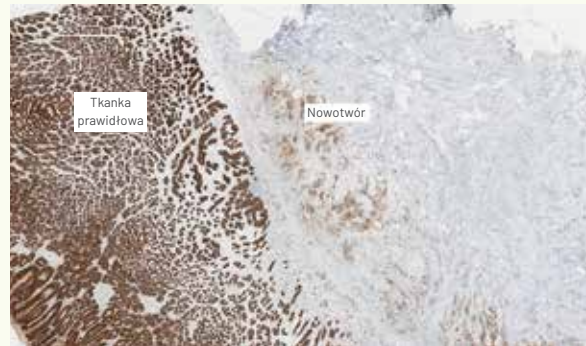
Referencje: **18.** Shah MA et al. Nat Med 2023; 29(8): 2133-2141. **19.** Shitara K et al. Lancet 2023; 401(10389): 1655-1668. **20.** Compton CC et al. Arch Pathol Lab Med 2019; 143(11): 1346-1363.

Wskazówki dotyczące interpretacji

Wskazówka 1

CLDN18.2 wykazuje wybiórczą ekspresję w zróżnicowanych komórkach nabłonkowych błony śluzowej żołądka w tkankach prawidłowych. Podczas oceny zaleca się zachowanie szczególnej ostrożności.

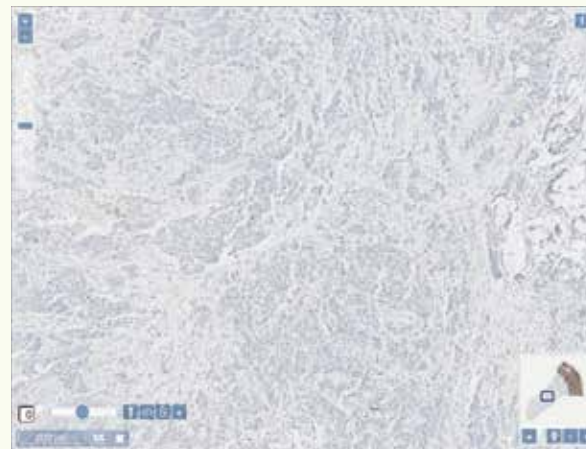
Barwienie w kierunku CLDN18 w komórkach prawidłowych i nowotworowych (×2)



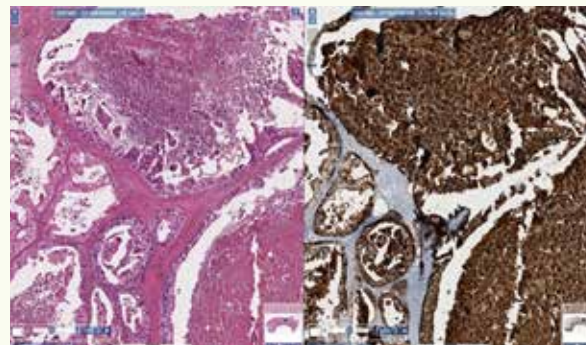
Wskazówka 2

Jest to przykład, w którym nie stwierdza się wybarwienia w kierunku CLDN18 w obszarze nowotworu.

Przypadek ujemny (całkowicie ujemny) (×5)



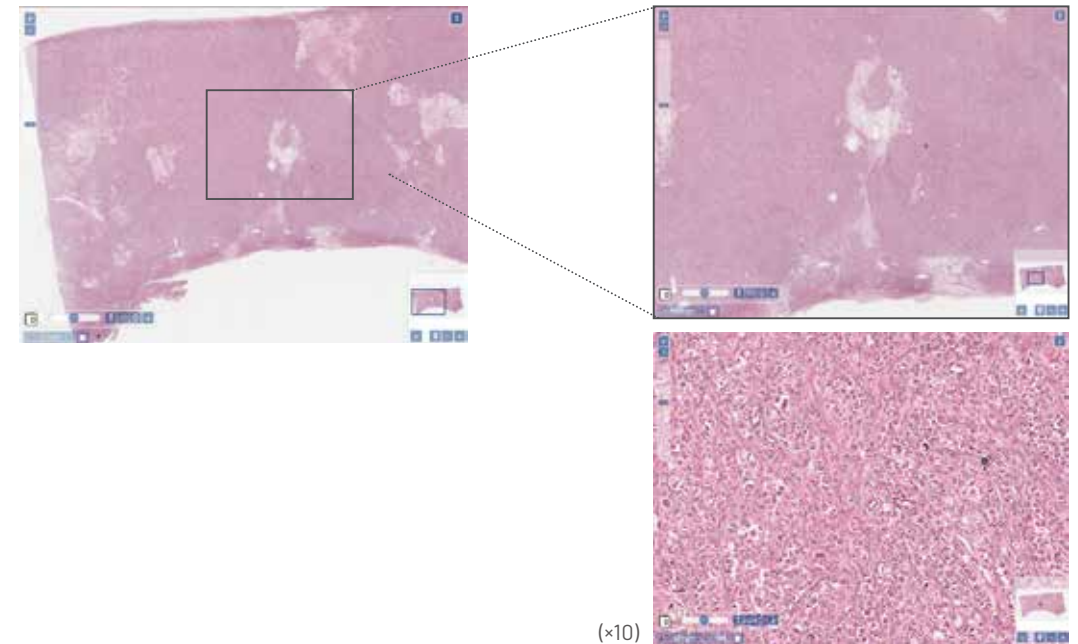
Barwienie H+E oraz barwienie CLDN18 w martwiczej części raka żołądka (×10)



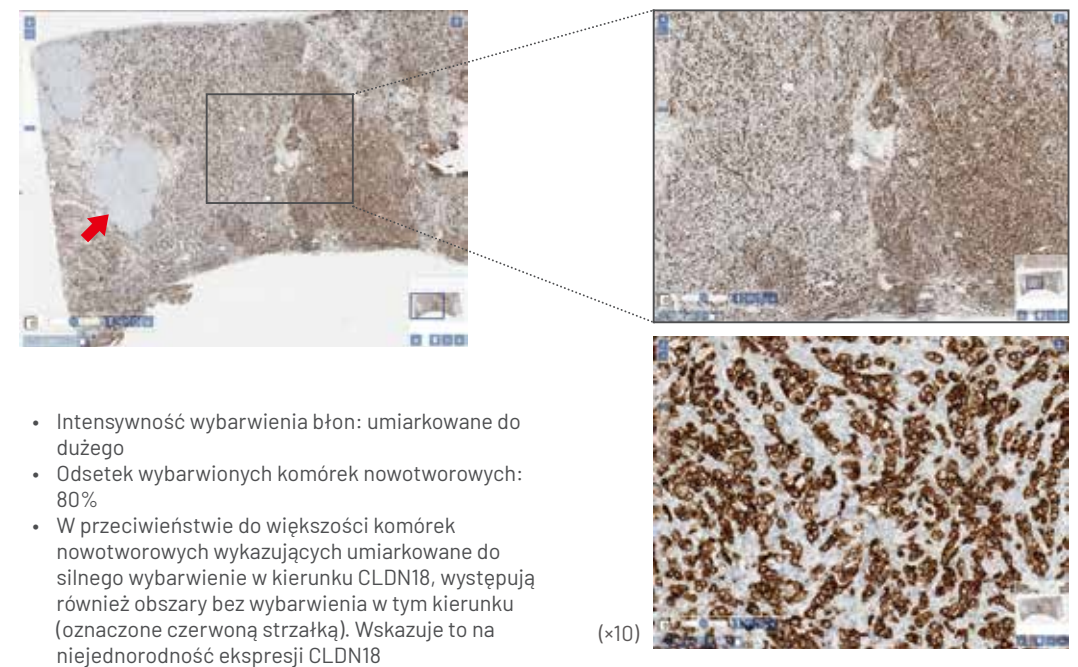
Wskazówka 3

Należy potwierdzić obszar nowotworu za pomocą barwienia hematoksyliną i eozyną (H+E) oraz przeprowadzić ocenę. Zaleca się zachowanie szczególnej ostrożności, ponieważ tkanka martwicza również wykazuje nieswoiste wybarwienie.

Barwienie H+E

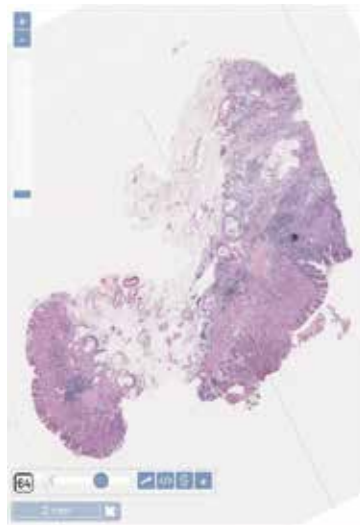


Barwienie CLDN18



- Intensywność wybarwienia błon: umiarkowane do dużego
- Odsetek wybarwionych komórek nowotworowych: 80%
- W przeciwieństwie do większości komórek nowotworowych wykazujących umiarkowane do silnego wybarwienie w kierunku CLDN18, występują również obszary bez wybarwienia w tym kierunku (oznaczone czerwoną strzałką). Wskazuje to na niejednorodność ekspresji CLDN18

Barwienie H+E

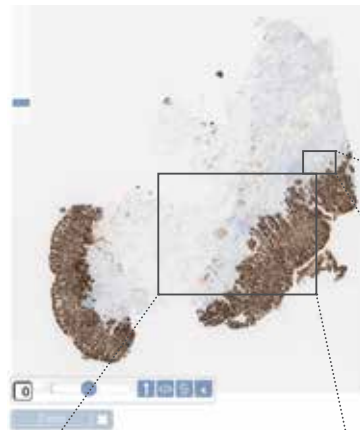


Kontrola ujemna*

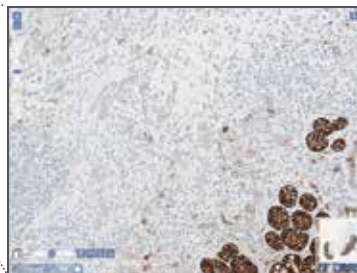


* Barwienie z użyciem przeciwciała kontroli ujemnej zamiast przeciwciała pierwotnego.

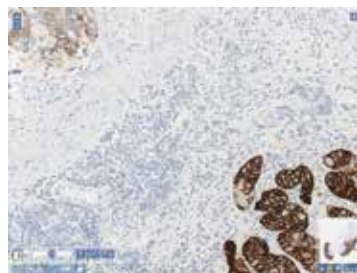
Barwienie CLDN18



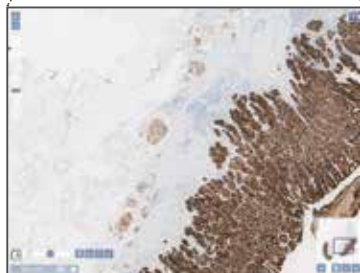
- Intensywność wybarwienia błon: umiarkowane do dużego
- Odsetek wybarwionych komórek nowotworowych: 10%
- Umiarkowane wybarwienie w kierunku CLDN18 jest widoczne jedynie w bardzo ograniczonych obszarach, podczas gdy większość komórek nowotworowych wykazuje słabe wybarwienie immunohistochemiczne błony komórkowej lub cytoplazmy. Warto zwrócić uwagę, że silna ekspresja CLDN18.2 jest widoczna w prawidłowych gruczołach błony śluzowej żołądka



(×10)

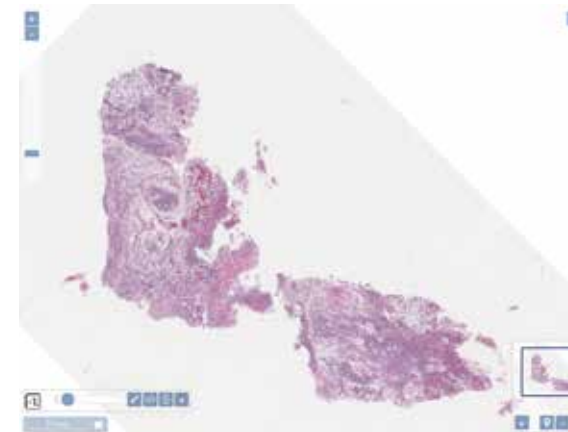


(×10)



(×2)

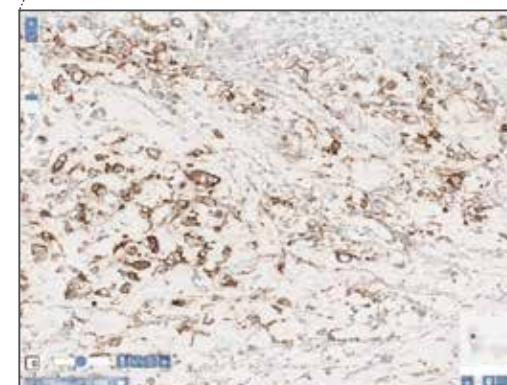
Barwienie H+E



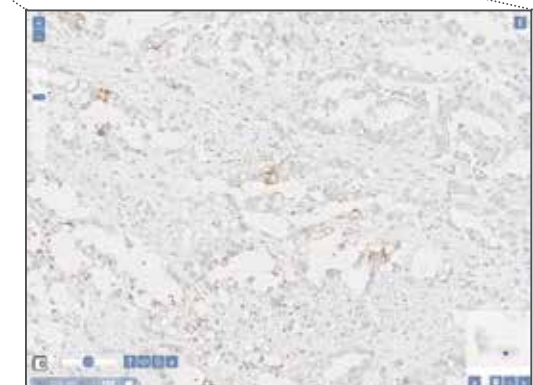
Barwienie CLDN18



- Intensywność wybarwienia błon: umiarkowane do dużego
- Odsetek wybarwionych komórek nowotworowych: 30%
- Można zidentyfikować komórki nowotworowe wykazujące umiarkowane do silnego wybarwienie, jednak przy ocenie odsetka dodatnio wybarwionego obszaru stwierdza się, że jest on mniejszy niż 50%, a w preparacie po prawej stronie wybarwienie w kierunku CLDN18 nie obejmuje całej zmiany nowotworowej. Próbkę ta jest ujemna



(×10)

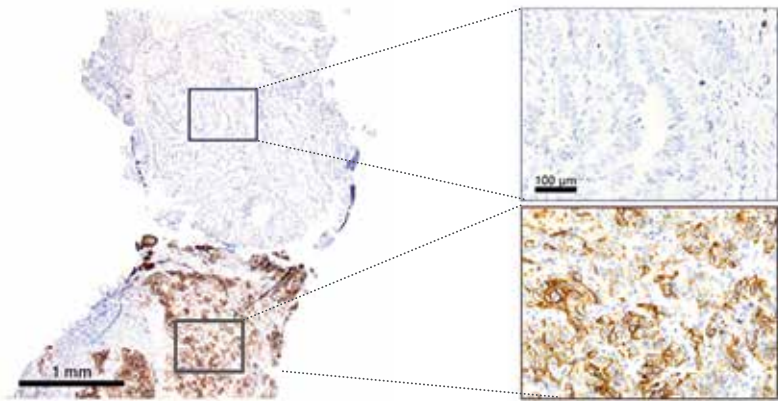


(×10)

Analiza biomarkera CLDN18.2 u pacjentów z miejscowo zaawansowanym (LA) nieresekcyjnym lub przerzutowym gruczolakorakiem żołądka lub połączenia żołądkowo-przełykowego (mG/GEJ)

- Heterogenność ekspresji CLDN18.2 w obrębie guza G/GEJ:
- W 2021 roku włoski zespół badawczy opublikował dane dotyczące heterogenności w obrębie guza, przeprowadzając badanie wirtualnej biopsji u 93 pacjentów leczonych chirurgicznie z powodu raka G/GEJ (77 przypadków raka żołądka, 16 przypadków raka połączenia żołądkowo-przełykowego)¹²
 - Do symulacji wirtualnych biopsji endoskopowych wykorzystano cyfrowo zeskanowane obrazy przypadków raka żołądka wybarwionych na obecność CLDN18 (po pięć biopsji dla każdego z dwóch cyfrowych preparatów dla każdego nowotworu)
 - Ocenę ekspresji CLDN18.2 przeprowadziło dwóch patologów, którzy nie posiadali informacji klinicznych
 - Czułość wzrosła przy zwiększeniu liczby biopsji z 2 do 9 (93–100%); po uzyskaniu 6 biopsji dalszy wzrost był minimalny (~97,7–100%)
 - Swoistość pozostawała stabilna przy liczbie 6–8 biopsji (98,5–98,9%)

Reprezentatywny przykład heterogenności ekspresji CLDN18 w obrębie guza



Charakterystyka choroby²¹

- Częstość występowania dodatniego statusu CLDN18.2
 - 39,9% (1341/3357) u pacjentów z **gruczolakorakiem żołądka**
 - 37,5% (338/901) u pacjentów z **gruczolakorakiem GEJ**
- Wykazano statystycznie istotny związek pomiędzy statusem CLDN18.2 a typem nowotworu (p = 0,0002)
 - Największą częstość dodatniego statusu CLDN18.2 stwierdzono u pacjentów z **nowotworami typu rozlanego** (48,3%; 553/1145)
 - U pacjentów z **nowotworami typu jelitowego** wskaźnik ten wynosił 38,8% (308/794)
 - U pacjentów z **nowotworami typu mieszanego** wskaźnik ten wynosił 42,9% (134/312)

Charakterystyka próbek²¹

- Częstość występowania dodatniego statusu CLDN18.2 była podobna niezależnie od metody uzyskania materiału
 - 38,6% (1403/3632) w przypadku **biopsji**
 - 37,6% (327/870) w przypadku **materiału resekcyjnego**
- Częstość występowania dodatniego statusu CLDN18.2*
 - 39,4% (201/510) w próbkach z **ognisk przerzutowych**
 - 38,0% (1498/3939) w próbkach z **ogniska pierwotnego**

* W dwóch badaniach klinicznych dodatni status CLDN18.2 zdefiniowano jako obecność umiarkowanego do silnego wybarwienia błon w kierunku CLDN18 w ≥ 75% komórek nowotworowych.

Sugeruje to, że do przesiewowej oceny ekspresji CLDN18.2 metodą IHC można wykorzystywać próbki z ogniska pierwotnego lub z ognisk przerzutowych.

Czy istnieje alternatywny marker dla CLDN18.2?

Nie istnieje alternatywny marker dla CLDN18.2. Ponadto nie istnieją żadne metody oceny CLDN18.2 alternatywne wobec badania IHC, w tym badania genetyczne.

NOTATKI

CLDN = kładyna; FFPE = utrwalony w formalinie i zatopiony w parafinie; FNA = biopsja aspiracyjna cienkoigłowa; G/GEJ = żołądka/połączenia żołądkowo-przełykowego; H+E = hematoxylina i eozyna; IHC = badanie immunohistochemiczne; IVD = diagnostyka in vitro; LA = miejscowo zaawansowany; (m)G/GEJ = (przerzutowy) rak żołądka/połączenia żołądkowo-przełykowego.
Referencje: 21. Shitara K et al. J Clin Oncol 41, 2023 (dodatek 16; streszczenie 4035).

NOTATKI

NOTATKI