

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 樋口 晃生

横浜市立大学大学院医学研究科医科学専攻外科治療学

審査員

主査	横浜市立大学大学院医学研究科 消化器内科学教授	前田 慎
副査	横浜市立大学大学院医学研究科教授 分子細胞生物学教授	大野 茂男
副査	横浜市立大学大学院医学研究科准教授 消化器・腫瘍外科学准教授	秋山 浩利

Clinical significance of platelet derived growth factor receptor- β (PDGFR- β) gene expression in stage II/III gastric cancer with S-1 adjuvant chemotherapy

(StageII/III 胃癌根治切除+S-1 補助化学療法投与症例における Platelet derived Growth Factor Receptor- β (PDGFR- β)遺伝子発現の臨床的意義)

【背景と目的】 StageII/III 胃癌の標準治療は D2 リンパ節郭清を伴う胃切除と S-1 による術後 1 年間の補助化学療法である。しかしながら標準治療を受けた stageII/III 胃癌患者でも、その 5 年生存率は stageII:84.2%, stageIIIA:67.1%, stageIIIB:50.2%と治療成績は未だ十分ではない。更なる治療成績の向上を目指し、バイオマーカーを用いた個別化治療が期待されている。

PDGFR- β はチロシンキナーゼ受容体の 1 つであり、腫瘍の増殖、血管新生などに関与している。そこで今回我々は根治切除後に補助化学療法として S-1 を投与した stage II/III 胃癌症例における胃癌組織の PDGFR- β 遺伝子発現の臨床的意義について検討した。

【対象と方法】 対象は 2002 年から 2010 年に根治切除術後 S-1 による補助化学療法を受けた stage II/III 胃癌症例 134 例。同時期に胃癌根治切除後に S-1 による補助化学療法が施行されなかった 103 例を対照症例とした。胃癌組織と近接正常胃粘膜の凍結検体より mRNA を抽出して PDGFR- β mRNA の相対的発現量を real-time RT PCR を用いて計測し、臨床病理学的因子および生存率との関係について検討した。

【結果】 PDGFR- β mRNA の発現量は近接正常粘膜組織と比較して胃癌組織で有意に多かった ($p=0.009$)。免疫染色において PDGFR- β は胃癌組織の間質で発現が認められた。PDGFR- β mRNA の発現量と臨床病理学的因子の間に関連性は認めなかった。S-1 投与群において PDGFR- β 高発現群の無病生存率は低発現群と比較して不良な傾向にあった。全生存率は S-1 投与群において PDGFR- β 高発現群は低発現群と比較して有意に不良であった。多変量解析でも独立した予後不良因子であった。一方 S-1 非投与群では PDGFR- β 発現による全生存率に有意差は認めなかった。

【結論】 S-1 による術後補助化学療法を施行した stageII/III 胃癌根治切除症例における胃癌組織の PDGFR- β 遺伝子高発現は予後予測因子として有用である可能性が示唆された。

審査にあたり、以上の論文内容の説明がなされた後、以下の質疑応答が行われた。

まず、秋山浩利副査より以下の質問がなされた。

- 1) S-1 による術後補助化学療法施行群という限定された群において PDGFR- β の発現を調べた理由は？
- 2) PDGFR- β 高発現群と低発現群の再発形式に違いはあるのか？
- 3) PDGFR- β が高発現であると S-1 の効果が減弱する理由は？その他の系統の抗がん剤についてはどうなのか？

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

- 1) ACTS-GC 試験 (stageII/III 胃癌に対する S-1 を用いた術後補助化学療法群と手術単独療法群の予後を比較した第 III 相無作為化試験) の stage 別 5 年生存率は、術後補助化学療法を施行しても StageII:84.2%, StageIIIA:67.1%, stageIIIB:50.2%と未だ十分な治療成績ではない。その理由として stageII/III 胃癌症例中に抗癌剤抵抗性の集団が含まれているためと推察される。PDGFR- β 発現はがん間質圧を上昇させ腫瘍への抗癌剤送達を妨げる作用があるので術後補助化学療法施行群において PDGFR- β 発現が予後不良因子となるかを検討した。
- 2) 再発形式に違いは認めなかった。
- 3) PDGFR- β の作用には癌関連繊維芽細胞を刺激して繊維芽細胞の増殖や細胞外基質の産生を促し癌間質を増大させて間質圧を上昇させる作用がある。間質圧が上昇すると腫瘍への抗癌剤の送達が減弱するため S-1 の効果が減弱すると考えられる。間質圧の上昇は他の種類の抗癌剤の送達にも影響を及ぼす。間質圧の上昇によりタキサン系抗癌剤の送達が減少したという報告もある。

次に大野茂男副査より以下の質問がなされた。

- 1) 同じサンプルを使用して貴教室の他の医局員はどのようなバイオマーカーを調べたのか？今までに明らかになった点と未だに不明な点は？
- 2) 癌間質圧とは？
- 3) 他の医局員が調査してきた複数のバイオマーカーの結果も併せて今後どのような研究につなげていくつもりか？

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

1) 当科でこれまで他の医局員が報告した胃癌のバイオマーカーは INHBA(Inhibin beta A)、SPARC(Secreted protein acidic and rich in cysteine)、SRPX2(Sushi-repeat-containing protein X-linked2(SRPX2)、IGF1R(Type1 insulin like growth factor receptor)の4種類である。これらの研究で癌の増殖進展に関与するバイオマーカーについては明らかになってきたが、抗癌剤抵抗性に関するバイオマーカーについてはまだ明らかになっていない。今回抗癌剤抵抗性に関連する PDGFR- β について調査し、術後補助化学療法施行症例で PDGFR- β が prognostic biomarker となるか検討した。

2) 抗癌剤が血管を出て腫瘍へ到達する際に間質組織を通る必要があるが、癌間質圧とは間質組織を通過する際に受ける抵抗力のことである。薬物が血管壁を通して腫瘍へ移行する機序は濃度差によって起こる拡散と圧力差によって起こる対流とに大きく分けられる。抗癌剤などの高分子化合物は対流によって血管壁から腫瘍へと移行する。正常組織では血管と組織の間に圧力差があるが、腫瘍では間質圧が亢進しているため血管と組織の間の圧力差は小さく血管から間質への薬物移行が妨げられるため間質圧の増大は抗癌剤抵抗性に関連する。

3) 今までに教室員が調べてきたバイオマーカーの結果を統合して、バイオマーカーを用いた胃癌の再発リスク層別化キットの開発研究につなげていきたいと考えている。

最後に前田 慎主査より以下の質問がなされた。

- 1) PDGF はどこから発現しているのか？
- 2) 今回の研究で PDGF は調べているか？
- 3) PDGF の発現量は PDGFR- β の発現量によって差はないのか？
- 4) 今回の研究で PDGFR- α は調べているか？
- 5) PDGFR- α と PDGFR- β で働きの違いはあるのか？
- 6) 胃癌では PDGFR- α と PDGFR- β どちらの発現が多いのか？
- 7) PDGFR- β mRNA の発現量と蛋白の発現量には相関はあるのか？
- 8) 抗 PDGFR- β 阻害薬の臨床試験はあるのか？
- 9) 本研究のどの部分を申請者が行い、どの部分を共同研究者が行ったのか。

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

- 1) PDGF は腫瘍細胞自体から発現している。
- 2) 今回の研究で PDGF は調べていない。
- 3) 文献では PDGFR- β の過剰発現は PDGF-BB の発現を誘発させる、PDGF-BB の発現量は PDGFR- β の発現量に依存するといった報告がある。逆に PDGF-BB

の過剰発現は PDGFR- β の発現を誘発するといった報告もある。そのような報告から総合すると PDGF の発現量は PDGFR- β の発現量によって差があり、PDGFR- β の発現量が多ければ PDGF の発現量も多いことが予想される。

4) 今回の研究で PDGFR- α は調べていない。

5) 正常組織では PDGFR- α は中枢神経系の発達や様々な組織の器官形成に関わり、PDGFR- β は脈管形成に関与していると言われている。腫瘍組織では PDGFR- α は腫瘍組織に発現し、腫瘍組織から産生される主に PDGF-AA の刺激を受けて腫瘍を増殖させる。PDGFR- β は主に PDGF-BB の刺激を受けて腫瘍周囲の間質に存在する血管周皮細胞や癌関連繊維芽細胞に発現し、新生血管や癌間質を発達させる。

6) PDGFR- α の発現は glioma や GIST など一部の腫瘍では報告がある。一方、癌間質における PDGFR- β の発現は消化器癌をはじめとする多くの腫瘍において報告がされている。胃癌についても PDGFR- β の報告が主であり PDGFR- β の発現が主であると考えられる。

7) 31 人の脊索腫患者の PDGFR- β mRNA 発現と PDGFR- β 蛋白の発現を調べた報告があり、PDGFR- β mRNA の発現量が多い程 PDGFR- β 蛋白の発現度が高い傾向にあった。また、乳癌細胞株を用いて PDGFR- β mRNA 発現と PDGFR- β 蛋白の発現について調べた報告もあるが、その文献においても PDGFR- β mRNA の発現量が多い程 PDGFR- β 蛋白の発現度が高い傾向にあるので mRNA の発現量と蛋白の発現量には相関はあると考えられる。

8) PDGFR- β に特化した阻害薬の臨床試験はない。しかし PDGFR 阻害薬の試験薬には CP868.596 や Crenolanib といったものがあり、それらを利用した臨床試験が現在行われている最中である。

9) 患者への説明や同意の取得、手術検体の採取保存は、全症例ではないが自分自身でも行った。また臨床データや病理データのデータベース構築にも携わった。免疫染色は自分自身で行った。PCR は主に実験助手に行ってもらったが一連の手技を教わり何回も計測手技を練習した後に PDGFR- β mRNA 計測の一部を担当した。統計解析や論文作成は主任研究員と相談しながら自分で行った。

以上、研究内容に関する多くの質問に対して、的確なる回答を得られた。本研究では、S-1 による術後補助化学療法を施行した stageII/III 胃癌根治切除症例における胃癌組織の PDGFR- β 遺伝子高発現は予後予測因子として有用である可能性が示した臨床的に重要なものである。本研究は当該分野の発展に貢献したと評価し、博士の学位を授与するに値すると総合的に判断された。