

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者指名 沼田幸司

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 横浜市立大学医学研究科
肝胆膵消化器病学教授 中島 淳
- 副査 横浜市立大学医学研究科
病態病理学准教授 奥寺 康司
- 副査 横浜市立大学医学研究科
泌尿器科学准教授 中井川 昇

Clinical significance of *IGF1R* Gene Expression in Patients with Stage II/III Gastric Cancer who Receive Curative Surgery and Adjuvant Chemotherapy with S-1

StageII/III 胃癌根治切除後に S-1 補助化学療法を行った症例における *IGF1R* 遺伝子の臨床的有用性)

【序論】

StageII/III 胃癌の標準治療は D2 郭清を伴う根治切除後に術後補助化学療法が行われている。術後補助化学療法によって5年生存率が約10%向上したが、いまだ十分ではない。これに対して、個別化治療による治療成績の向上が期待されている。その一つとして、バイオマーカーを用いた個別化治療が注目されている。

そこで、今回われわれはフッ化ピリミジンに対する薬剤耐性や癌の進展に重要な役割を果たすと考えられている Insulin-like Growth Factor 1 Receptor (*IGF1R*) に着目し、胃癌および近接正常粘膜の凍結検体を用いて *IGF1R* 遺伝子の発現を計測し、臨床データとの関係を検討することで予後予測因子としての有用性について検討した。

【対象と方法】

対象は2002年から2010年間に横浜市立大学附属病院外科治療学，神奈川県立がんセンター消化器外科，横浜市立大学附属市民総合医療センター消化器病センターの3施設で①組織的に胃癌と診断され，②胃癌に対し根治的手術を施行し，③StageII または StageIII の診断を受け，S-1 を術後補助化学療法として使用した症例で，④本研究に同意された術前化学療法などの前治療歴のない134症例とした。参考症例として，同時期，同施設においてS-1による補助化学療法を行わなかった手術単独症例94例についても検討した。

方法は，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 RT 反応にて cDNA を作成し，*IGF1R* mRNA の相対的発現量を real-time 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】

IGF1R の発現量を正常粘膜組織と癌組織とで比較すると正常粘膜に比べて癌組織で高発現である傾向を認めた($P = 0.078$)。

*IGF1R*の発現量を最大カイ二乗検定で求めたカットオフ値で高発現群と低発現群の2群に分類し、臨床病理学的因子との関係について検討すると、*IGF1R*発現と静脈侵襲との間に相関をみとめた ($P = 0.047$)。生存に関する多変量解析では *IGF1R*発現が独立した予後規定因子であった ($HR3.681$, $95\%CI : 1.423-9.523$, $P=0.007$)。一方、術後補助化学療法としてS-1を使用しなかった手術単独症例では *IGF1R*の発現の程度に関わらず生存率に有意差を認めなかった ($P = 0.904$)

【考察】

胃癌において *IGF1R* 遺伝子の発現は正常胃粘膜と比較して胃癌組織で有意に高発現であった。これは胃癌において *IGF1R* や *IGF1R*mRNA が過剰発現をしているという Min らの報告と一致した結果であった。また、*IGF1R* 遺伝子発現状況と臨床病理学的因子との関連性について検討したところ、*IGF1R* 遺伝子発現が静脈侵襲と関連していることが示唆された。これについては、われわれのグループにおいて、大腸癌における *IGF1R* 発現が静脈侵襲と関連していることを既に報告している。

次に、生存との関係を検討すると、*IGF1R* 高発現例は *IGF1R* 低発現例と比較して有意に予後不良であった。Ge らはわれわれの報告と同様に *IGF1R* の過剰発現が胃癌において化学療法抵抗性と関連し、かつ予後不良であることを報告している。

以上より、根治切除後に術後補助化学療法としてS-1を使用した StageII/III 胃癌における *IGF1R* 遺伝子の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。

S-1を補助化学療法として投与した StageII/III 胃癌患者において、胃癌組織の *IGF1R* 高発現が予後不良に関与するメカニズムについて、本研究では明らかにするまでには至っていないが、これまでの報告からは、*IGF1R* は癌の進展に関わっているのみならず、フッ化ピリミジンに対して薬剤排出およびアポトーシスの抑制を促すことで治療抵抗性を示すことが報告されており、これらのメカニズムから、S-1の術後補助化学療法を施行した症例のうち *IGF1R* 高発現例では、術後に遺残した微小転移細胞がS-1の補助化学療法に対し治療抵抗性を有することで予後不良となっている可能性が推察された。

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、奥寺康司副査より以下の質問がなされた。

1) 数ある遺伝子の中で、IGF1Rに着目していくプロセスは？

2) S-1使用群で調べたら予後に差があったということで、IGF1RがS-1を使用した症例での特異的なバイオマーカーであるということを考えているのか？また、S-1を使用しなかった症例でIGF1Rが予後因子にならなかったということの記載はあるのか？

3) (術後補助化学療法で使用した薬剤が) S-1でなかったらどうであるかというdiscussionはあったか？

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

1) StageII/III胃癌を対象とし、胃癌組織の凍結検体よりmRNAを抽出してcDNAを作成し、先行研究であるACTS-GC試験附随バイオマーカー研究で検討された63遺伝子と、文献から癌の浸潤・転移などに関わる遺伝子など、合計127遺伝子をバイオマーカー候補として選択し、定量PCR法にてその発現量を測定し、(この作業は実験助手に手伝ってもらいながら、複数の医局員で分担して行いました。),生存との関係を検討した結果、6遺伝子がStageII/III胃癌の予後に関連する遺伝子として同定されました。それらの6遺伝子のうち、私はIGF1Rに着目し、今回の研究を行うこととしました。

2) ご質問の通り、IGF1RがS-1の補助化学療法を使用したStageII/III症例における特異的なバイオマーカーである可能性があると考えられました。あくまで参考症例としてですが、S-1を使用しなかった手術のみの症例についても検討し、IGF1Rが予後因子とならなかったことについても記載いたしました。

3) S-1以外の薬のことについても検討いたしました。S-1以外では数年前にカペシタビン+オキサリプラチン療法が標準治療として認められましたが、そのオキサリプラチンについてもIGF1Rによる薬剤耐性の報告がありました。

次に中井川昇副査より以下の質問がなされた。

1) IGF1R 高発現の症例は S-1 を使用しても予後不良となるとのことだが、それは S-1 を使用しなかった症例と比較しても悪いのか？もし悪いのだとすれば IGF1R 高発現症例では S-1 を使用しなくてもいいといった治療選択につながっていくと考えられるが、どうなのか？

2) 静脈侵襲の有無と IGF1R とに有意な関連があるのに、静脈侵襲の有無が予後と関連しないというのはどういう理由か？一般的に胃癌において静脈侵襲は予後と関連しないのか？

3) レセプターの発現が腫瘍細胞であるということは確認されているのか？

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

1) 今回の検討では、S-1使用した症例のうちのIGF1R高発現群と、S-1を使用しなかった症例でのIGF1R高発現群とでは、生存曲線を比較するとややS-1使用した症例の方が良好な傾向があるが、今回の検討はretrospectiveなものであり、両者の背景因子が異なりますので、(S-1非使用症例で高齢者が多く、StageIIが多い、など)比較は困難です。IGF1Rが高発現の症例ではS-1を使用しなくても良いのではないかということに関しては、S-1+他の抗癌剤との併用、S-1+IGF1Rをターゲットとした分子標的薬の併用、あるいはもう一つの標準治療であるカペシタビン+オキサリプラチン療法の投与が考えられます。

2) 今回の検討からは、胃癌組織におけるIGF1Rの発現は、静脈侵襲とは独立して予後と関連があったと考えています。また文献的には胃癌において静脈侵襲が予後と関連あるという報告と、静脈侵襲が予後と関連しないとの報告があります。

3) 今回は胃癌組織全体からRNAを抽出してIGF1R遺伝子発現量としてみているため、レセプターの発現が腫瘍細胞であるどうかは本研究からはいうことはできないと考えています。

最後に中島淳主査より以下の質問がなされた。

1) (申請者がプレゼンテーションで示した)メカニズムに関する証明はまだなされていないと考えられ、それについては今後どうしていくつもりか？

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

1) リン酸化 AKT の測定キットは既にあり(報告書に記載あり。ELIZA法を使用)、それを用いることにより、AKTの活性化の変化をみることができると考えています。また、IGF1Rをノックダウンした胃癌細胞とコントロール細胞を用いて、S-1に対する治療抵抗性に関する蛋白発現を *in vitro* および *in vivo* で検討することを考えています。

審査結果

以上のように、学位論文についての明確なプレゼンテーションがなされ、主査および副査の質問にも的確に答えられたことから、学位(博士)を授与するにふさわしいと考えられた。