

学位論文内容の要旨

High *gamma-glutamyl hydrolase* and low *folylpolyglutamate synthetase* expression as prognostic biomarkers in patients with locally advanced gastric cancer who were administrated postoperative adjuvant chemotherapy with S-1
(StageII/III 胃癌における *gamma-glutamyl hydrolase (GGH)* および *folylpolyglutamate synthetase (FPGS)* 遺伝子の臨床的有用性)

Yukio Maezawa

前澤 幸男

Department of Surgery

Yokohama City University Graduate School of Medicine

横浜市立大学大学院医学研究科 医科学専攻 外科治療学

(Doctorial Supercisor : Munetaka masuda, Professor)

(指導教員 : 益田 宗孝 教授)

学位論文内容の要旨

High *gamma-glutamyl hydrolase* and low *folylpolyglutamate synthetase* expression as prognostic biomarkers in patients with locally advanced gastric cancer who were administrated postoperative adjuvant chemotherapy with S-1

(StageII/III 胃癌における *gamma-glutamyl hydrolase* (GGH) および *folylpolyglutamate synthetase* (FPGS) 遺伝子の臨床的有用性)

<http://link.springer.com/article/10.1007/s00432-019-03087-8>

1. 序論

胃癌根治切除後の再発予防を目的とし、病理組織学的 StageII, III (T1N2-3/T3N0 を除く) に対しては、フッ化ピリミジン (5-FU) 系薬剤を含む術後補助療法を行うことが標準治療とされているが、適切に術後補助療法が行われた患者でも再発し得る。予後改善のために様々な補助療法が行われているが、十分とは言えない。近年、バイオマーカーを用いた個別化治療により治療成績の向上が期待されているが、胃癌術後の予後因子および 5-FU 系薬剤の効果予測因子としてのバイオマーカーは不明である。今回我々は、細胞増殖や DNA 合成および修復に必要である細胞内葉酸の濃度調整に関わる酵素である γ -グルタミルヒドロラーゼ (Gamma-glutamyl hydrolase; GGH) およびホリルポリグルタミン酸シンターゼ (folylpolyglutamate synthetase; FPGS) について注目し、その発現量と臨床病理学的因子との関連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を行った。

2. 対象と方法

対象は 2002 年 3 月から 2012 年 7 月の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、初発胃癌に対し根治的胃切除術が施行され、病理組織学的に StageII または StageIII (T1N2-3/T3N0 を除く) と診断された症例で、胃癌組織および近接正常胃粘膜で GGH および FPGS 発現量を測定し得た 253 例とした。胃癌組織および近接正常胃粘

膜の凍結検体より mRNA を抽出して、逆転写反応により cDNA を作成し、*GGH* および *FPGS* mRNA の相対的発現量を real-time (RT)PCR を用いて計測した。*GGH* および *FPGS* mRNA 発現と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。

3. 結果

GGH の発現量は近接正常胃粘膜と比較して胃癌組織において有意に高発現であった ($P < 0.001$)。 *FPGS* 発現量は近接正常胃粘膜と胃癌組織において有意差は認めなかった。臨床病理学的因子との関係では、*GGH* 発現と年齢、組織型、静脈侵襲との間に相関を認めた。*FPGS* 発現と臨床病理学的因子とに相関は認めなかった。全生存率における検討では、*GGH* 高発現は独立予後因子であった (HR2.58, 95%CI: 1.29-5.16, $P=0.008$)。S-1 投与の有無による層別解析では、S-1 投与群のみで *GGH* 高発現群が低発現群と比較し、有意に予後不良であった ($P=0.043$)。全症例における、*GGH* および *FPGS* 発現の組み合わせによる検討では、全生存率に有意差を認めた ($P=0.019$)。S-1 投与の有無における層別解析では、S-1 投与群のみで全生存率に有意差を認めた ($P=0.039$)。

4. 考察

GGH および *FPGS* 遺伝子発現量の違いについて胃癌組織と正常胃粘膜とで比較した。これまでの報告でも様々な癌腫で *GGH* 高発現が示唆されており、Shubbar らは、乳癌における検討で、浸潤性乳癌組織での *GGH* 発現は正常組織と比較し、有意に高いと報告しており (Shubbar et al., 2013)、Pollard らは、膀胱癌における検討で、癌組織での *GGH* 発現は正常組織と比較し、有意に高いと報告している (Pollard et al., 2009)。本研究でも正常の胃粘膜と比較して胃癌組織において *GGH* 遺伝子の過剰発現を認めている。本検討では、*FPGS* 発現は胃正常粘膜と胃癌組織とで差は認めなかった。また、*GGH* および *FPGS* 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結果、*GGH* 高発現は、年齢と組織型、静脈侵襲と有意に関連していた。*FPGS* 高発現は、静脈侵襲とリンパ管侵襲との関連を認め、*GGH* 遺伝子および *FPGS* 遺伝子発現が腫瘍の悪性度と関係している可能性が示唆された。*GGH* 遺伝子および *FPGS* 遺伝子発現と予後との関係を調べた結果では、*GGH* 遺伝子高発現例は低発現例と比較して有意に予後不良であり、多変量解析の結果、*GGH* 遺伝子高発現は予後不良因子であった。Melling らは、ERG 陰性前立腺癌において *GGH* 高発現群は低発現群と比較し、長期予後が有意に不良であることを報告している (Melling et al., 2017)。Shubbar らは浸潤性乳癌において *GGH* 高発現群は低発現群と比較し、長期予後が有意に不良であると報告している。一方で、本検討において *FPGS* 遺伝子発現と全生存率との関連を認めなかった。

GGH 遺伝子高発現および *FPGS* 遺伝子低発現が、予後予測因子として使用できる可能性がある。5-FU は、フルオロデオキシウリジン一リン酸 (fluorodeoxyuridine monophosphate; FdUMP) に代謝され、還元型葉酸の一つである 5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸 (5,10-

methylenetetrahydrofolate; 5, 10-CH₂-THF) と三量体を形成することで、チミジル酸シンターゼ (thymidylate synthase; TS) の働きを阻害する (Longley et al., 2003; Wilson et al., 2014) GGH はポリグルタメート型葉酸からモノグルタメート型葉酸の産生を触媒するが、一方で FPGS はモノグルタメート型葉酸からポリグルタメート型葉酸の産生を触媒する (B, 2010). ポリグルタメート型葉酸は高い細胞内貯留性を持つため、高 GGH 活性および低 FPGS 活性は、5-FU の TS 抑制効果に影響する可能性が報告されている (Moran, 1999). これまでの報告と本研究の結果から、根治切除後の StageII/III 胃癌において、GGH および FPGS 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。

引用文献

B, S. (ed.) 2010. *Folate in Health and Disease*, Lynn B. Bailey (ed).

Longley, D. B., Harkin, D. P. & Johnston, P. G. 2003. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*, 3(5), pp 330-8.

Melling, N., Rashed, M., Schroeder, C., Hube-Magg, C., Kluth, M., Lang, D., Simon, R., Moller-Koop, C., Steurer, S., Sauter, G., Jacobsen, F., Buscheck, F., Wittmer, C., Clauditz, T., Krech, T., Tsourlakis, M. C., Minner, S., Huland, H., Graefen, M., Budaus, L., Thederan, I., Salomon, G., Schlomm, T. & Wilczak, W. 2017. High-Level gamma-Glutamyl-Hydrolase (GGH) Expression is Linked to Poor Prognosis in ERG Negative Prostate Cancer. *Int J Mol Sci*, 18(2), pp.

Moran, R. G. 1999. Roles of folylpoly-gamma-glutamate synthetase in therapeutics with tetrahydrofolate antimetabolites: an overview. *Semin Oncol*, 26(2 Suppl 6), pp 24-32.

Pollard, C., Nitz, M., Baras, A., Williams, P., Moskaluk, C. & Theodorescu, D. 2009. Genoproteomic mining of urothelial cancer suggests {gamma}-glutamyl hydrolase and diazepam-binding inhibitor as putative urinary markers of outcome after chemotherapy. *Am J Pathol*, 175(5), pp 1824-30.

Shubbar, E., Helou, K., Kovacs, A., Nemes, S., Hajizadeh, S., Enerback, C. & Einbeigi, Z. 2013. High levels of gamma-glutamyl hydrolase (GGH) are associated with poor prognosis and unfavorable clinical outcomes in invasive breast cancer. *BMC Cancer*, 13(47).

Wilson, P. M., Danenberg, P. V., Johnston, P. G., Lenz, H. J. & Ladner, R. D. 2014. Standing the test of time: targeting thymidylate biosynthesis in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 11(5), pp

282-98.

論文目録

I 主論文

Maezawa, Y., Sakamaki, K., Oue, N., Kimura, Y., Hashimoto, I., Hara, K., Kano, K., Aoyama, T., Hiroshima, Y., Yamada, T., Yamamoto, N., Ogata, T., Ito, H., Cho, H., Shiozawa, M., Yoshikawa, T., Morinaga, S., Rino, Y., Yasui, W., Masuda, M., Miyagi, Y. & Oshima, T. 2019. High gamma-glutamyl hydrolase and low folylpolyglutamate synthetase expression as prognostic biomarkers in patients with locally advanced gastric cancer who were administrated postoperative adjuvant chemotherapy with S-1. *J Cancer Res Clin Oncol*.

II 副論文

なし

III 参考論文 (英文)

Aoyama, T., Maezawa, Y., Yoshikawa, T., Segami, K., Kano, K., Hayashi, T., Yamada, T., Numata, M., Goda, M., Tamagawa, H., Sato, T., Yukawa, N., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. & Oshima, T. 2019a. Comparison of Weight and Body Composition After Gastrectomy Between Elderly and Non-elderly Patients With Gastric Cancer. *In Vivo*, 33(1), pp 221-227.

Aoyama, T., Sato, T., Maezawa, Y., Kano, K., Hayashi, T., Yamada, T., Yukawa, N., Oshima, T., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. & Yoshikawa, T. 2017. Postoperative weight loss leads to poor survival through poor S-1 efficacy in patients with stage II/III gastric cancer. *Int J Clin Oncol*, 22(3), pp 476-483.

Aoyama, T., Sato, T., Segami, K., Maezawa, Y., Kano, K., Kawabe, T., Fujikawa, H., Hayashi, T., Yamada, T., Tsuchida, K., Yukawa, N., Oshima, T., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. & Yoshikawa, T. 2016. Risk Factors for the Loss of Lean Body Mass After Gastrectomy for Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol*, 23(6), pp 1963-70.

Aoyama, T., Yoshikawa, T., Maezawa, Y., Kano, K., Hara, K., Sato, T., Hayashi, T., Yamada, T., Cho, H., Ogata, T., Tamagawa, H., Yukawa, N., Rino, Y., Masuda, M. & Oshima, T. 2018. A Comparison of the Body Composition Changes Between Laparoscopy-assisted and Open Total Gastrectomy for Gastric Cancer. *In Vivo*, 32(6), pp 1513-1518.

Aoyama, T., Yoshikawa, T., Maezawa, Y., Kano, K., Numata, M., Hara, K., Komori, K., Yamada, T., Hayashi, T., Sato, T., Tamagawa, H., Yukawa, N., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. &

Oshima, T. 2019b. The postoperative lean body mass loss at one month leads to a poor survival in patients with locally advanced gastric cancer. *J Cancer*, 10(11), pp 2450-2456.

Aoyama, T., Yoshikawa, T., Maezawa, Y., Segami, K., Kano, K., Numata, M., Yamada, T., Tamagawa, H., Fujikawa, H., Komori, K., Hayashi, T., Sato, T., Yukawa, N., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. & Oshima, T. 2019c. Influence of Postoperative Surgical Complications After Gastrectomy on Body Weight and Body Composition Changes in Patients With Gastric Cancer. *Anticancer Res*, 39(2), pp 1073-1078.

Hashimoto, I., Sakamaki, K., Oue, N., Kimura, Y., Hiroshima, Y., Hara, K., Maezawa, Y., Kano, K., Aoyama, T., Yamada, T., Yamamoto, N., Ogata, T., Ito, H., Shiozawa, M., Morinaga, S., Rino, Y., Yasui, W., Masuda, M., Miyagi, Y. & Oshima, T. 2019. Clinical Significance of PRKCI Gene Expression in Cancerous Tissue in Patients With Gastric Cancer. *Anticancer Res*, 39(10), pp 5715-5720.

Ishida, H., Cho, H., Tsuchida, K., Onoyama, H. & Maezawa, Y. 2019. Laparoscopic stomach-partitioning gastrojejunostomy in preparation for distal gastrectomy and Billroth-II reconstruction after neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer with gastric outlet obstruction: A case report. *Asian J Endosc Surg*.

Kano, K., Aoyama, T., Maezawa, Y., Hayashi, T., Yamada, T., Tamagawa, H., Sato, T., Cho, H., Yoshikawa, T., Rino, Y., Masuda, M., Oshima, T. & Ogata, T. 2019. Postoperative Level of C-Reactive Protein Is a Prognosticator After Esophageal Cancer Surgery With Perioperative Steroid Therapy and Enhanced Recovery After Surgery Care. *In Vivo*, 33(2), pp 587-594.

Kano, K., Aoyama, T., Maezawa, Y., Nakajima, T., Ikeda, K., Yamada, T., Sato, T., Oshima, T., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. & Yoshikawa, T. 2017a. The survival and prognosticators of peritoneal cytology-positive gastric cancer patients who received upfront gastrectomy and subsequent S-1 chemotherapy. *Int J Clin Oncol*, 22(5), pp 887-896.

Kano, K., Aoyama, T., Nakajima, T., Maezawa, Y., Hayashi, T., Yamada, T., Sato, T., Oshima, T., Rino, Y., Masuda, M., Cho, H., Yoshikawa, T. & Ogata, T. 2017b. Prediction of postoperative inflammatory complications after esophageal cancer surgery based on early changes in the C-reactive protein level in patients who received perioperative steroid therapy and enhanced recovery after surgery care: a retrospective analysis. *BMC Cancer*, 17(1), pp 812.

Kano, K., Aoyama, T., Yoshikawa, T., Maezawa, Y., Nakajima, T., Hayashi, T., Yamada, T., Sato, T., Oshima, T., Rino, Y., Masuda, M., Cho, H. & Ogata, T. 2018. The Negative Survival Impact of Infectious Complications After Surgery is Canceled Out by the Response of Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Esophageal Cancer. *Ann Surg Oncol*, 25(7), pp 2034-2043.

Maezawa, Y., Aoyama, T., Kano, K., Tamagawa, H., Numata, M., Hara, K., Murakawa, M., Yamada, T., Sato, T., Ogata, T., Oshima, T., Yukawa, N., Yoshikawa, T., Masuda, M. & Rino, Y. 2019. Impact of the Age-adjusted Charlson comorbidity index on the short- and long-term outcomes of patients undergoing curative gastrectomy for gastric cancer. *J Cancer*, 10(22), pp 5527-5535.

Maezawa, Y., Aoyama, T., Yamada, T., Kano, K., Hayashi, T., Sato, T., Oshima, T., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. & Yoshikawa, T. 2017. Priority of lymph node dissection for proximal gastric cancer invading the greater curvature. *Gastric Cancer*.

Numata, M., Hasuo, K., Hara, K., Maezawa, Y., Kazama, K., Inari, H., Takata, K., Jin, Y., Yukawa, N., Oshima, T., Rino, Y., Taguri, M. & Masuda, M. 2015. A propensity score-matching analysis comparing the oncological outcomes of laparoscopic and open surgery in patients with Stage I/II colon and upper rectal cancers. *Surg Today*, 45(6), pp 700-7.

Numata, M., Sawazaki, S., Morita, J., Maezawa, Y., Amano, S., Aoyama, T., Sato, T., Oshima, T., Mushiake, H., Yukawa, N., Shiozawa, M., Rino, Y. & Masuda, M. 2018. Comparison of Laparoscopic and Open Surgery for Colorectal Cancer in Patients with Severe Comorbidities. *Anticancer Res*, 38(2), pp 963-967.

Rino, Y., Yukawa, N., Kano, K., Sato, T., Yamada, T., Aoyama, T., Maezawa, Y., Oshima, T., Shiozawa, M., Morinaga, S., Cho, H., Yoshikawa, T. & Masuda, M. 2018. Our connection procedure for an EEA XL stapler and anvil head using EEA OrVil for laparoscopic total or proximal gastrectomy. *Asian J Endosc Surg*, 11(3), pp 280-283.

Sawazaki, S., Numata, M., Morita, J., Maezawa, Y., Amano, S., Aoyama, T., Tamagawa, H., Sato, T., Oshima, T., Mushiake, H., Yukawa, N., Shiozawa, M., Rino, Y. & Masuda, M. 2018. Safety of Laparoscopic Surgery for Colorectal Cancer in Patients with Severe Comorbidities. *Anticancer Res*, 38(6), pp 3767-3772.

Segami, K., Aoyama, T., Kano, K., Maezawa, Y., Nakajima, T., Ikeda, K., Sato, T., Fujikawa, H., Hayashi, T., Yamada, T., Oshima, T., Yukawa, N., Rino, Y., Masuda, M., Ogata, T., Cho, H. &

Yoshikawa, T. 2017. Risk factors for severe weight loss at 1 month after gastrectomy for gastric cancer. *Asian J Surg*.

Tamagawa, A., Aoyama, T., Tamagawa, H., Ju, M., Komori, K., Maezawa, Y., Kano, K., Kazama, K., Murakawa, M., Atsumi, Y., Sawazaki, S., Hara, K., Numata, M., Sato, T., Yukawa, N., Masuda, M. & Rino, Y. 2019. Influence of Postoperative Pneumonia on Esophageal Cancer Survival and Recurrence. *Anticancer Res*, 39(5), pp 2671-2678.

Yamada, T., Jin, Y., Hasuo, K., Maezawa, Y., Kumazu, Y., Rino, Y. & Masuda, M. 2013. Chylorrhea following laparoscopy assisted distal gastrectomy with D1+ dissection for early gastric cancer: A case report. *Int J Surg Case Rep*, 4(12), pp 1173-5.

IV 参考論文 (和文)

前澤, 幸., 佐藤, 勉., 神尾, 一., 瀬上, 顕., 中島, 哲., 青山, 徹., 利野, 靖., 尾形, 高., 長, 晴. & 吉川, 貴. 2016a. 集学的治療により根治手術を施行しえた,HER2 原発陰性/腹膜播種陽性の Stage IV 胃癌の 1 例. *日本消化器外科学会雑誌*, 49(9), pp 867-872.

前澤, 幸., 佐藤, 勉., 神尾, 一., 瀬上, 顕., 中島, 哲., 川邊, 泰., 白井, 順., 藤川, 寛., 青山, 徹., 林, 勉., 池田, 耕., 山田, 貴., 土田, 知., 山本, 直., 大島, 貴., 利野, 靖., 益田, 宗., 尾形, 高., 長, 晴. & 吉川, 貴. 2016b. 長期(6 年)生存中の胃癌術後小脳転移の 1 例. *癌と化学療法*, 43(10), pp 1286-1288.

前澤, 幸., 山内, 美., 佐藤, 勉., 林, 勉., 山本, 直., 大島, 貴., 湯川, 寛., 山中, 正., 吉川, 貴., 利野, 靖. & 益田, 宗. 2017a. 孤立性リンパ節転移切除 30 ヶ月後に原発巣が判明した十二指腸 neuroendocrine tumor の 1 切除例. *日本消化器外科学会雑誌*, 50(6), pp 429-436.

前澤, 幸., 青山, 徹., 森田, 順., 神尾, 一., 天野, 新., 澤崎, 翔., 沼田, 正., 林, 勉., 山田, 貴., 佐藤, 勉., 大島, 貴., 湯川, 寛., 吉川, 貴., 益田, 宗. & 利野, 靖. 2019. 胃癌に対する胃切除術 Billroth I 再建後の逆流症状にアコチアミド塩酸塩が著効した 1 例. *癌と化学療法*, 46(3), pp 595-597.

前澤, 幸., 長, 晴., 神尾, 一., 中島, 哲., 池田, 耕., 山田, 貴., 佐藤, 勉., 大島, 貴., 利野, 靖., 益田, 宗., 尾形, 高. & 吉川, 貴. 2017b. 腹腔鏡補助下幽門側胃切除 Roux-en-Y 再建後に生じた内ヘルニアを腹腔鏡下に修復した 1 例. *癌と化学療法*, 44(10), pp 932-934.

前澤, 幸., 林, 勉., 山本, 淳., 大西, 宙., 堀井, 伸., 井上, 広., 木村, 準., 高川, 亮., 牧野, 洋., 鈴木, 喜., 大島, 貴., 円谷, 彰., 利野, 靖., 國崎, 主. & 益田, 宗. 2015. 術後食道再発に少量

Weekly Docetaxel/Cisplatin 療法が有効であった食道浸潤胃癌の 1 例. *癌と化学療法*, 42(10), pp 1304-1306.

前澤, 幸., 林, 勉., 沼田, 正., 渥美, 陽., 神尾, 一., 片山, 雄., 青山, 徹., 福島, 忠., 蓮尾, 公., 白石, 龍., 松川, 博., 笠原, 彰., 玉川, 洋., 利野, 靖. & 益田, 宗. 2016c. 市中病院における腹腔鏡下低位前方切除術の安全性 多施設共同後向き検討. *癌と化学療法*, 43(12), pp 1696-1698.

前澤, 幸., 蓮尾, 公., 神, 康., 原, 健., 利野, 靖. & 益田, 宗. 2014. 腸閉塞を契機として診断された悪性腹膜中皮腫の 1 例. *日本臨床外科学会雑誌*, 75(9), pp 2591-2596.