

論 文 内 容 要 旨

題目 Biomarkers predicting the response to chemotherapy and the prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma

(食道扁平上皮癌患者の化学療法効果と予後予測に関わるバイオマーカー)

著者 Seiya Inoue\*, Takahiro Yoshida, Takeshi Nishino, Masakazu Goto, Mariko Aoyama, Naoya Kawakita, Yota Yamamoto, Furukita, Yoshihito, Hiromitsu Takizawa, Akira Tangoku  
令和3年発行 General Thoracic and Cardiovascular Surgery (GTCS) に掲載予定

(主任教授 丹黒 章)

内容要旨

食道扁平上皮癌 (Esophageal Squamous Cell Carcinoma: ESCC) 患者の予後は、化学(放射線)療法や手術を含む集学的治療によって改善してきたが、依然として不良である。ESCC に対する化学療法の治療過程における遺伝子発現変化に着目し、化学療法前後の食道癌患者の腫瘍部分の生検組織を用いて、PI3K/AKT シグナル経路と免疫チェックポイント経路に関連する遺伝子発現解析を施行した。臨床データと比較分析することにより、予後因子や化学療法の効果予測因子を同定することを目的とした。これらの研究結果をもとに現在普及しているドセタキセル、5-フルオロウラシル、シスプラチン 3 剤併用化学療法以降の分子標的治療薬を含む個別化治療を目指した基盤研究に繋げることを目的としている。

当教室で 2009 年から 2018 年までに初回治療として化学療法を受けた ESCC 患者から採取された腫瘍組織検体を用いて、治療前(74 例)と治療後(67 例)の clinicopathological factors と共に、PI3K, AKT-1, mTOR, 4EBP-1, p70S6K, PD-L1, PD-L2 の mRNA 発現レベルを定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR) を用いて測定した。その遺伝子発現解析と臨床経過を比較し、化学療法の効果予測因子と予後因子を調査した。化学療法前後の

発現量を比較し、化学療法後に発現量が高い遺伝子、及び化学療法の奏効が認められなかった患者群で発現量が高い遺伝子を耐性関連遺伝子として抽出した。

治療前の腫瘍組織内における遺伝子発現量は、7つの遺伝子の中で4E-BP1 (Median: 2.86; IQR: 1.35-5.77)が最も高く、その他の遺伝子の発現量は1前後であった。治療前の遺伝子発現量と化学療法効果別の比較では、AKT-1とPD-L1の高発現が非奏効において有意に多かった( $p=0.034$ ,  $p=0.020$ )。次に治療後の発現量では、4E-BP1 (median: 1.88; IQR: 0.88-4.30)、AKT-1 (median: 1.86; IQR: 0.96-2.93)の順に高発現が認められた。治療前後の発現量の比較では、PIK3CA、mTOR、4E-BP1、p70S6Kは治療後に有意に低値であったが、AKT-1とPD-L2は治療後に高くなっていた。非奏効群における治療前後の発現比較では、PIK3CAとmTOR、p70S6Kは有意に減少していたが、AKT-1、4E-BP1、PD-L1では不変であった。一方、PD-L2では有意差は認めなかったが上昇していた。化学療法の効果予測における多変量解析では、腫瘍径5cm ( $p=0.006$ )以上とPD-L1高発現 ( $p=0.042$ )が化学療法の効果不良因子となった。治療前の予後における多変量解析では、低分化 ( $p=0.001$ )、他臓器転移 ( $p<0.001$ )、p70S6K高発現 ( $p=0.037$ )が予後不良因子であった。治療後発現における予後では、PD-L1 ( $P=0.012$ )とPD-L2高発現 ( $p=0.007$ )が有意に予後不良であった。

この研究結果から、治療前のヒト食道癌組織においてPD-L1高発現は化学療法の効果不良因子であり、p70S6K高発現は予後不良因子であるという結果が得られた。化学療法は、癌細胞の遺伝子発現を変化させ、獲得耐性を誘発するという理論に基づき、耐性に関連する遺伝子は化学療法後に upregulation すると予測したが、今回の研究では有意な upregulation は認められなかった。しかし、有意差は認めなかったが、AKT-1とPD-L2は化学療法後に高くなっており、化学療法耐性に関連する可能性が示唆された。ヒト食道扁平上皮癌においてPI3K/AKTシグナル経路と免疫チェックポイント経路は、化学療法効果予測と予後に関連していることを示しており、個別化治療のターゲットとなる可能性があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1479</b> 号	氏名	井上 聖也
審査委員	主査 島田 光生 副査 高山 哲治 副査 常山 幸一		

題目           Biomarkers predicting the response to chemotherapy and the prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma (食道扁平上皮癌患者の化学療法効果と予後予測に関わるバイオマーカー)

著者           Seiya Inoue, Takahiro Yoshida, Takeshi Nishino, Masakazu Goto, Mariko Aoyama, Naoya Kawakita, Yota Yamamoto, Furukita Yoshihito, Hiromitsu Takizawa, Akira Tangoku  
 令和3年発行 General Thoracic and Cardiovascular Surgery に掲載予定  
 (主任教授 丹黒 章)

要旨           食道扁平上皮癌(esophageal squamous cell carcinoma: ESCC)患者の予後は化学(放射線)療法や手術を含む集学的治療によって改善してきたが依然として不良であり、予後や効果予測因子を考慮した個別化治療に期待が寄せられている。

申請者らは、ESCCの予後や化学療法効果予測因子の解明を目的として、初回治療として化学療法(docetaxel + cisplatin + 5-fluorouracil)を施行したESCC患者の治療前と治療後の腫瘍組織検体を用いてPIK3CA、AKT-1、mTOR、4E-BP1、p70S6K、PD-L1、PD-L2のmRNA発現をRT-qPCRを用いて定量した。その結果を臨床経過と比較して化学療法の効果ならびに予後予測因子を検討するとともに、化学療法後に発現が高い遺伝子及び化学療法非奏効患者群で高発現する遺伝子を検討した。

得られた結果は以下の如くである。

- 1) 化学療法前の腫瘍内遺伝子発現は7つの遺伝子の中で *4E-BP1* が最も高く、次いで *AKT-1* の順であった。化学療法後の発現でも *4E-BP1*、*AKT-1* の順に高発現していた。
- 2) 化学療法前後の比較では、*PIK3CA*、*mTOR*、*4E-BP1*、*p70S6K* は化学療法後に有意に低値で、一方 *AKT-1* と *PD-L2* は高値を示した。
- 3) 化学療法前の遺伝子発現と化学療法の効果の検討では、化学療法非奏効例で *AKT-1* と *PD-L1* が高発現していた。
- 4) 化学療法非奏効群における治療前後の比較では、*p70S6K* は有意に低下しており、*PIK3CA* と *mTOR* は低下する傾向を、*AKT-1*、*4E-BP1*、*PD-L1*、*PD-L2* は変化を認めなかった。
- 5) 化学療法の効果予測に関する多変量解析では、腫瘍径 5cm 以上と *PD-L1* 高発現が独立効果不良因子であった。予後に影響する化学療法前因子に関する多変量解析では、低分化組織、他臓器転移、*p70S6K* 高発現が独立予後不良因子であった。また化学療法後の遺伝子発現と予後の関係では *PD-L1* と *PD-L2* 高発現が予後不良因子であった。

したがって化学療法前の遺伝子発現の中で *PD-L1* 高発現が化学療法の抵抗性と、*p70S6K* 高発現が予後と強く関係することが明らかとなった。

本研究はこれらの遺伝子が ESCC の個別化治療を目指した新規治療のターゲットとなる可能性を示しており、その臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。