



Title	遺伝子発現プロファイルに基づく膵癌の免疫組織化学的サブタイピング法の確立 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	丸川, 活司
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13257号
Issue Date	2018-06-29
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/71256">http://hdl.handle.net/2115/71256</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2422
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Katsuji_Marukawa_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 丸 川 活 司

### 学位論文題名

遺伝子発現プロファイルに基づく膵癌の免疫組織化学的サブタイピング法の確立  
(Establishment of immunohistochemical subtyping of pancreatic cancer  
based on gene expression profile)

#### 【はじめに】

浸潤性膵管癌（膵癌）は罹患者数と死亡者数がほぼ同数の難治性がんのひとつであり、画像診断が進歩した現在においても、患者の多くは初回診断時に切除不能な状態にある。早期で完全切除可能な膵癌は非常に少ないことに加え、切除された膵癌の再発率は70～90%と高く、術後早期に再発をきたす患者が多い。

近年、乳癌をはじめとする幾つかの癌腫では、網羅的遺伝子発現プロファイリングに基づく免疫組織化学的（IHC）サブタイピング法が日常的に行われ、薬物療法の治療選択において必要不可欠である。膵癌の予後改善には、非切除症例における治療成績の向上が求められているが、薬物療法はその中心的役割を担っており、分子サブタイピング法の確立は急務である。最近では膵癌においても、網羅的遺伝子解析による遺伝子発現プロファイリングが試みられ、数種の遺伝子発現シグネチャーにより、膵癌はclassical (CL) タイプ、quasimesenchymal (QM) タイプ、exocrine-like (EL) タイプの3亜型に分類され、膵癌の標準治療薬に対する感受性予測が可能であると報告された。頻度が高く主要な2つのサブタイプ（CLタイプとQMタイプ）では、CLタイプに比しQMタイプは予後不良であること、また、ゲムシタビンへはQMタイプが、エルロチニブへはCLタイプがより高い感受性を示すことが示された。このような背景から、治療方針の決定等に資する病理確定診断において、上記のサブタイピングを組み込んだ新規分子病理診断法の確立は決めて重要な課題といえる。そこで本研究では、分子サブタイピングに資する分子として、網羅的遺伝子発現解析より選択されたシグニチャー構成分子の中でも、予後に有意差のみられるCLタイプとQMタイプの複数の分子に着目し、これら遺伝子発現を代替（サロゲート）するIHCサブタイピング法の確立に関する検討を行った。膵癌の組織マイクロアレイ（TMA）を用い、各分子の発現と臨床病理学的意義について、IHC検討を行い、さらにendoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration（EUS-FNA）で採取された膵癌検体を用いて、予後予測診断に関する検証を行なった。

#### 【対象と方法】

対象症例は2000年から2011年に北海道大学病院・消化器外科Ⅱにて外科的切除され、膵癌と病理診断された195症例のうち、術前治療未施行であり、かつホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織の利用が可能であった155例を対象とした。TMAは1症例につきFFPEブロックの数か所（腫瘍部位2～4か所、正常部位2か所）から、組織標本マイクロアレイヤーを用いて径2.0mmの中空針で組織を採取し、レシピエントパラフィンブロックに埋め込み、TMAパラフィンブロックを作製した。また、TMAブロックを用いたIHC染色の解析は、次のように行った：各分子ごとの染色強度を光学顕微鏡下にて0点（陰性）、1点

(弱陽性), 2点(中等度陽性), 3点(強陽性)の4段階にスコア化し, 各強度の細胞占有率(%)を乗算した和(スコア0×a%+スコア1×b%+スコア2×c%+スコア3×c%)を総スコアとして判定し, 各分子の総スコアの中央値をカットオフ値として, 低発現および高発現に分類した. 解析対象分子は, 既報の網羅的遺伝子発現解析より選択されたシグニチャー分子のうち, それらの機能等に着目し, CLタイプ6分子(TSPAN8, S100P, MUC13, TFF1, TFF3, LGALS4)と, QMタイプ6分子(CAV1, KRT14, S100A2, NT5E, PHLDA1, HK2)を選択し, 各分子の発現と予後を含む臨床病理学的因子との関係を解析した. また, マーカー分子の発現状態を指標に症例選択を行い, レーザーマイクロダイセクション(LCM)を用いてFFPE組織の腫瘍RNA抽出し, マイクロアレイ解析を行い, 各症例の遺伝子発現が既報の遺伝子シグニチャーと一致しているかを検証し, IHCサブタイピングのマーカーパネルの妥当性を評価した. さらに2011年から2015年に北海道大学病院・消化器内科にて膵癌治療開始前の確定診断を目的として採取されたEUS-FNA検体183症例を対象とし, サロゲートマーカーであることが示唆された候補分子と予後との関係を解析した.

#### 【結果】

CL/QMタイプのシグニチャー分子の発現と予後との関連性によって, CLタイプのTFF1高発現群において有意な生存期間の延長を確認できた( $p=0.048$ ). また, 予後不良因子とされるQMタイプのCAV1( $p<0.001$ ), NT5E( $p<0.001$ ), S100A2( $p=0.034$ )の高発現群で有意な生存期間の短縮が認められた. さらに, 臨床病理学的因子を含めた多変量解析からNT5Eの発現は膵癌患者の予後を予測する独立した因子であることが示された. ( $p=0.003$ , ハザード比=1.959, 95%信頼区間: 1.25-3.06) また, IHCサブタイピングによってCL/QMタイプに分けられた各々の代表的27症例(CLタイプ14症例, QMタイプ13症例)よりRNAを抽出し, マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行なった結果, 遺伝子発現プロファイルとIHCフェノタイプとの一致性を確認することができ, IHCサブタイピングのマーカーパネルとしての妥当性を検証できた. NT5EおよびCAV1が, QMタイプ膵癌のIHCサロゲートマーカーであることが示唆されたため, EUS-FNA検体を用いて検討した結果, NT5E陽性群(OS; $p=0.011$ )およびCAV1陽性群(OS; $p=0.009$ )で有意な生存期間の短縮が認められた.

#### 【考察】

IHCで発現が確認されたTFF1, CAV1, NT5EおよびS100A2は, CL/QMタイプのシグニチャー分子として膵癌患者の予後を予測する有用なサロゲートマーカーとなる可能性が示唆された. 本研究結果は, 膵癌の病理診断において適切なパネルのIHC検索を加えることにより, 患者の予後予測のみならず, 膵癌薬物治療の個別化に向けた診断法開発に寄与する可能性がある. 特に, EUS-FNAで採取された微小な生検検体においても有用性が検証され, 今後膵癌の術前診断への応用が期待される.

#### 【まとめ】

網羅的遺伝子発現解析結果に基づき, 膵癌の術前診断・治療戦略に資するIHCサブタイピング法の開発を試みた. 結果, 膵癌患者の予後予測や治療法選択に有用と判断されるCL/QMタイプの遺伝子シグニチャーと一致したIHCサロゲートマーカーの候補を選出できた. 本研究は膵癌の術後再発症例や非切除症例における治療成績の向上にも寄与する可能性がある.