



Title	頭頸部扁平上皮癌におけるDNA障害型抗がん薬の効果予測マーカーとしてのSLFN11の有用性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	浜田, 誠二郎
Description	配架番号 : 2709
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14971号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85848
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	HAMADA_Seijiro_abstract.pdf, 論文内容の要旨



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 浜田 誠二郎

学位論文題名

頭頸部扁平上皮癌における DNA 障害型抗がん薬の効果予測マーカーとしての
SLFN11 の有用性に関する研究

(Studies on SLFN11 as the prognostic marker of head and neck squamous cell carcinoma patients treated with platinum-based chemoradiotherapy)

【背景と目的】 頭頸部扁平上皮癌に対しては、手術、放射線治療、薬物療法、およびそれらを組み合わせた治療が行われる。薬物療法として、近年、分子標的治療薬や免疫チェックポイント阻害薬が臨床応用されているが、依然として白金製剤（シスプラチン、カルボプラチン）を用いた化学療法が最も多く施行されている。シスプラチンは癌細胞の DNA に結合し複製を阻害することで、癌細胞をアポトーシスへと導く DNA 障害型抗がん薬である。多くの症例で抗腫瘍効果が確認される一方、一定の割合で治療抵抗性を示す症例が存在することが課題である。これまで、DNA を標的とした抗がん薬の効果の予測に使用できるバイオマーカーは存在しなかった。2012 年、独立した二つの大規模な癌データベースである NCI-60 および Cancer Cell Line Encyclopedia の解析により、DNA 障害型の抗がん薬への感受性と mRNA の発現量が最も強く相関する遺伝子として *Schlafen family member 11* (*SLFN11*) 遺伝子が報告された。SLFN11 が DNA 障害型抗がん薬の感受性を増強させる機構の解明も進んでおり、癌細胞の DNA が障害されると、SLFN11 が DNA の複製フォークに結合してクロマチンの構造を変化させ、永続的な複製阻害を引き起こすことが報告された。また、SLFN11 の発現は免疫組織化学染色法 (Immunohistochemistry, IHC) により簡便に検出できるため、バイオマーカーとしての臨床応用に適している。そこで私は、SLFN11 発現が頭頸部癌患者において、DNA 障害型抗がん薬を用いた化学療法と放射線治療を組み合わせた化学放射線療法 (Chemoradiotherapy, CRT) の治療効果予測の有用なバイオマーカーとなるかどうかを、臨床検体および細胞株を用いた実験で検討し明らかにすることを目的として、本研究を実施した。

【対象と方法】 北海道大学病院耳鼻咽喉科において、2008 年 1 月から 2019 年 12 月までにシスプラチンを用いた化学放射線療法 (cisplatin-based chemoradiotherapy, CDDP-CRT) が施行された頭頸部扁平上皮癌患者 161 症例を解析対象とした。対象症例 161 例の治療前の生検組織のホルマリン固定パラフィン包埋ブロック切片を用いて、IHC により SLFN11、Ki-67、p53 のタンパク質発現の評価を行った。また、中咽頭癌に対しては p16 タンパク質発現も解析した。これらタンパク質発現量の情報と、年齢、性別、疾患名、臨床病期、治療内容、治療効果、転帰などを集積し、頭頸部癌の発生部位別の全生存率や無増悪生存率の評価を行った。全生存期間、無増悪生存期間の比較にはそれぞれ logrank 検定を用いた。また、SLFN11 陽性と評価した症例のうち、CDDP-CRT 後に再発もしくは残存を認め、かつ、腫瘍組織を入手できた 10 症例に対しても、IHC により治療前組織と SLFN11 陽性割合の比較検討を行った。5 つのヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株 (HSC-2、HSC-3、HSC-4、SCC-9、SCC-25) を用いて、定量 PCR により SLFN11 の mRNA 発現量を、ウエスタンブロッティング法により SLFN11 のタンパク質発現量をそれぞれ測定した。また、これらの細胞株の薬剤

感受性試験を行い、SLFN11 発現と薬剤感受性の関連を検討した。さらに、CRISPR/Cas9 によるゲノム編集技術を用いて、SLFN11 ノックアウト (SLFN11-KO) 細胞を樹立し、同様に薬剤感受性試験を行った。

【結果】 癌細胞における SLFN11 陽性細胞の割合の最小値、中央値、最大値は、それぞれ 0%、15%、95%であった。したがって本研究では、SLFN11 の陽性割合が 15%以上を SLFN11 陽性と定義した。臨床病理学的因子 (年齢、性別、Karnofsky performance status [KPS]、原発部位、病期分類、T 分類、N 分類、病理組織学的分化度、シスプラチン投与方法、Ki-67、p53) と SLFN11 発現の関連を検討したところ、いずれの因子においても有意差は得られなかった。しかし、中咽頭癌 61 症例のみを対象とした検討では、p16 陽性症例は p16 陰性症例と比較して有意に SLFN11 陽性の割合が高かった (Fisher の正確検定: $p = 0.03$)。全対象症例に対して、全生存期間を SLFN11 陽性群と陰性群に分けて解析したところ、SLFN11 陽性群が SLFN11 陰性群と比較して有意に良好だった (logrank 検定: $p = 0.002$ 、5 年全生存率 89.9% vs. 80.2%)。また、無増悪生存期間に関しても統計学的な有意差を認めた ($p < 0.001$ 、5 年無増悪生存率 78.8% vs. 52.8%)。部位別の検討においては、鼻副鼻腔癌、p16 陽性中咽頭癌において SLFN11 陽性例の無増悪生存期間が有意に良好であった。治療前生検組織では SLFN11 陽性であったが、CDDP-CRT 後に再発もしくは残存した 10 症例を検討したところ、8 症例で治療前の腫瘍と比較して治療後の再発もしくは残存腫瘍で SLFN11 発現が低下していた。頭頸部癌細胞株を用いた実験において、SLFN11-KO 細胞では DNA 障害型抗がん薬に対する感受性の低下を認めたが、非 DNA 障害型抗がん薬であるドセタキセルに対する感受性の低下は認められなかった。

【考察】 今回私は、頭頸部扁平上皮癌検体を用いて SLFN11 の発現が CDDP-CRT の治療効果と相関することを世界で初めて明らかにした。特に鼻副鼻腔癌において SLFN11 陽性群は陰性群と比較して有意に良好な無増悪生存率を認めた。本研究で検討した全ての鼻副鼻腔癌症例にはシスプラチンの超選択的動注療法が行われていた。経動脈投与は経静脈投与と比較してより高濃度のシスプラチンを腫瘍へ選択的に投与できることから、SLFN11 の発現の有無がより強く治療効果に反映された可能性があると考えられた。また、p16 陽性中咽頭癌は p16 陰性中咽頭癌と比較して、有意に SLFN11 陽性症例の割合が高かった。SLFN11 はインターフェロン刺激によって誘導され、抗ウイルス反応に重要な役割を果たすことが報告されており、ヒトパピローマウイルス感染が SLFN11 発現の上昇に関与している可能性が推察された。また、CDDP-CRT 後の再発もしくは残存腫瘍では、治療前の組織と比較して有意に SLFN11 発現が低下していた。本症例の SLFN11 免疫染色において、一部の症例では組織内において SLFN11 発現に明らかな不均質、いわゆる intratumor heterogeneity を認めていた。このことから、SLFN11 低発現の細胞群が CDDP-CRT に耐性を示して残存し、再増殖した可能性が示唆された。さらに私は、頭頸部癌細胞株を用いた実験も行い、SLFN11 発現がシスプラチンだけでなく、カルボプラチンやオラパリブなど他の DNA 障害型抗がん薬の感受性と有意に相関することを確認した。一方、非 DNA 障害型抗がん薬であるドセタキセルに対する感受性との間には相関がなかった。したがって、SLFN11 は DNA 障害型抗がん薬に特異的に関与することが示唆された。

【結論】 本研究結果から、頭頸部扁平上皮癌において SLFN11 が CDDP-CRT の治療効果予測に有用なバイオマーカーであることが明らかになった。SLFN11 を用いることで、症例に応じたより効果的な治療法の選択が可能となる、すなわち、precision medicine として実臨床への応用が期待される。