



Title	乳房外Paget病に対する新規治療実験系の確立 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	前田, 拓哉
Description	配架番号 : 2784
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15466号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90014
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	MAEDA_Takuya_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 前田 拓哉

学 位 論 文 題 名

乳房外 Paget 病に対する新規治療実験系の確立

(Establishment of a new experimental model for extramammary Paget' s disease)

【背景と目的】

乳房外 Paget 病 (Extramammary Paget's disease: EMPD) は高齢者の外陰部に好発する皮膚腫瘍で、多くの症例は腫瘍細胞が表皮内に限局していることから根治的手術により予後良好であることが知られる。しかしながらその一方でリンパ節転移や遠隔転移を起こす症例に関しては有効な治療法が確立されておらず、予後不良である。進行期における治療開発が進まない原因としては、EMPD が稀少癌であること、細胞株などの有用な前臨床実験系が存在しないことが挙げられる。近年、患者腫瘍組織移植モデル (patient-derived xenograft: PDX) が他癌種においては広く用いられるようになってきている。PDX は免疫不全マウスに患者腫瘍組織を移植し、腫瘍塊を継代する実験系であるが、従来の細胞株を用いた実験系と比較し腫瘍細胞の多様性、腫瘍細胞以外の宿主因子の特性を反映しうる実験系とされている。本研究ではこの PDX に注目し、EMPD に対する前臨床研究モデルを樹立し、治療実験を行うことで新たな治療選択肢を探ることを目的とした。

【対象と方法】

EMPD 患者のリンパ節転移再発の組織を細断し、免疫不全マウスである NOD/Scid マウスの皮下に移植を行った。定期的に腫瘍のサイズを計測し、500-1000 mm³を目安に次の世代のマウスに継代を行った。初代継代時に PDX 腫瘍と患者の原発巣組織及びリンパ節転移組織の性質を免疫染色・遺伝子パネル検査を用いて比較した。治療実験では PDX 腫瘍の大きさが 50-100 mm³になった時点で担癌マウスをランダム化し、それぞれコントロール、トラスツズマブ単剤、ラパチニブ単剤、トラスツズマブ+ラパチニブ併用、ドセタキセル、エリブリン、アベマシクリブ、パルボシクリブ群に振り分けて治療を行った。腫瘍体積はノギスで週 1 回計測し、重量は投与開始後 28 日に残存組織を摘出し体重計で測定した。また摘出した腫瘍は HE 染色の他に Ki-67, terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) の免疫染色を施行し、組織学的な評価も行った。腫瘍体積・重量に関しては統計学的に解析を行い、それぞれ対応するコントロール群との比較を行った。

【結果】

移植した患者組織は 5 ヶ月後に直径 10mm の結節を形成した。免疫染色では患者組織、PDX 腫瘍はいずれも CK7 陽性、HER2 弱陽性であり、同様の染色形質を示した。また、PDX 腫瘍と患者組織は共通して *ERBB2* S310F の遺伝子変異を有しており、この変異が病原性のある変異と考えられた。また、PDX 腫瘍を nude (nu/nu) mouse に移植し、移植した腫瘍が 3/3 (100%)で生着すること、HE 染色においても EMPD 腫瘍細胞が増殖していることを確認した。さらに、CryoStor[®]を用いて-80℃凍結保存した PDX 腫瘍が NOD/Scid mouse に再度生着することも確認した。治療実験に関

しては、トラスツズマブ・ラパチニブ・アベマシクリブ・パルボシクリブ・ドセタキセル・エリブリンいずれの治療群においてもコントロール群と比較して統計学的に有意な腫瘍体積の縮小効果を認めた ($P<0.001$)。治療群の腫瘍は Ki-67, TUNEL 染色による組織学的な評価においても治療効果を示していた。

【考察】

本研究により、PDX モデル腫瘍が形態学的・遺伝子学的に患者腫瘍の特性を引く継いでいることが判明した。さらに PDX 腫瘍が安定して継代可能であること、凍結保存が可能であることも確認した。また、分子標的阻害薬 (抗 HER2 療法)・殺細胞性抗がん剤とコントロール群の治療効果を比較した治療実験結果からはこれらの治療薬が EMPD の治療選択肢として有望な可能性が示唆された。既報告においては、EMPD の一部は腫瘍細胞における HER2 蛋白の過剰発現を伴うこと、そうした症例に抗 HER2 療法が有効であることが報告されている。今回の患者腫瘍の病原遺伝子変異と考えられた *ERBB2* S310F に関しては、他癌種における研究において必ずしも HER2 蛋白の過剰発現を伴わないことが知られているが、同様の変異を有する進行期 EMPD 患者の症例報告において、トラスツズマブとカペシタビンの併用療法が有効であったとする報告があり、本研究結果と一致した。また、近年の報告により、EMPD においても 12.5-26.5%の腫瘍で *ERBB2* S310F 変異があることが示されており、今後治療標的となり得る遺伝子変異であると考えられた。本研究で用いた微小管重合阻害薬のエリブリンと CDK4/6 阻害薬のアベマシクリブ・パルボシクリブに関しては実臨床においても有効性が確認されていない薬剤であるが、本研究で有効性が確認されており、今後進行期 EMPD に対する治療選択肢として有望な可能性が示唆された。また、近年、HER2 陽性乳癌の臨床研究において CDK4/6 阻害剤とトラスツズマブの併用療法の有効性が報告された。本研究では臨床検体を用いた免疫染色により EMPD における CDK4 とサイクリン D1 の発現量が高いことを確認し、CDK4/6 阻害薬による治療効果があることを示した。既報告より EMPD 症例の一部は *ERBB2* の病原性遺伝子変異や HER2 タンパク質の過剰発現を伴うことが明らかになっており、CDK4/6 標的療法は、HER2 活性化を伴う進行性 EMPD に対する単剤療法として有望であるだけでなく、抗 HER2 抗体との併用療法としても有望である可能性が示唆された。

【結論】

本研究にて得られた新知見は下記である。

- ・病理組織学的・遺伝子学的に患者の腫瘍を引き継いだ新しい EMPD-PDX モデルを作製した。
- ・治療実験では、抗 HER2 療法 (ラパチニブ, トラスツズマブ), 抗 CDK4/6 療法 (アベマシクリブ・パルボシクリブ) および細胞障害性抗がん剤 (ドセタキセル, エリブリン) による *in vivo* での腫瘍増殖抑制が確認された。

上記より EMPD-PDX-H1 は、EMPD の効果的な治療法の開発に役立つと考えられる。