

## 論文内容の要旨

Analysis of PIK3CA mutations and PI3K pathway proteins in advanced gastric cancer

(進行胃癌の予後予測因子としての PIK3CA 変異と PI3K 伝達経路関連タンパクの解析)  
(伊藤千絵, 西塚哲, 石田和之, 上杉憲幸, 菅井有, 田村元, 肥田圭介, 佐々木章)  
(Journal of Surgical Research 212 号 平成 29 年 5 月掲載)

### I. 研究目的

Adjuvant Chemotherapy Trial of TS-1 for Gastric Cancer (ACTS-GC 試験) の結果から, Stage II/III の胃癌患者の術後補助化学療法に 5-FU 前駆体テガフル合剤である S-1 の投与が推奨されている. これにより胃癌根治切除後の予後は改善しているが, 30-40% の患者では治療にもかかわらず癌の再発, 転移が認められる. 先行実験からリン酸化 PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) を発現している胃癌細胞は 5-FU 耐性獲得と高い生物学的悪性度を有していることが推測された. ヒトの癌では PI3K の触媒サブユニット p110  $\alpha$  をコードする遺伝子, PIK3CA の変異解析が数多く報告されている. E545K, H1047R が高頻度で, アポトーシス抵抗性や高い移動能・浸潤能などの機能を獲得する. 胃癌切除検体における PI3K シグナル伝達経路の活性化または PIK3CA 変異が胃癌術後患者の予後に影響するのであれば, これらの生物学的指標が予後予測因子として臨床的意義を持つと考えられる.

本研究では, 胃癌 160 例の臨床検体を用いて, PIK3CA 変異と再発率・生存率の関連, PI3K 伝達経路関連タンパクの発現と再発率・生存率の関連について後方視的に検証し, 胃癌術後患者の予後予測因子としての有用性を評価する.

### II. 研究対象ならび方法

2009 年 11 月以前に岩手医科大学附属病院で根治手術 (R0 手術) を施行した Stage I B/II/III の 160 症例 (手術単独群, n=115 および手術+S-1 投与群, n=45) を対象にホルマリン固定パラフィン包埋切片 (FFPE) からゲノム DNA を抽出し, PIK3CA の変異 hotspot である codon545 と codon1047 の PCR を行った. FFPE から組織マイクロアレイを作製し, PI3K 伝達経路関連タンパクであるリン酸化 PI3K (p-PI3K), リン酸化 AKT (p-AKT), リン酸化 mTOR (p-mTOR), PTEN の免疫組織染色を行った. 染色強度により (+) / (-) のいずれかに分類した. 再発・生存率は Kaplan-Meier 法で推定した. 群間の差, ハザード比はそれぞれ Log rank 検定, Cox 比例ハザードモデルを用いた. サブグループ解析では尤度比検定を行い, 臨床病理学的パラメータとの相互作用の有無を検討した.

### III. 研究結果

1. PCR産物が得られた111症例中13症例(11.7%)にcodon545変異を認め、変異アリル頻度は0.14-9.49%であった。Codon1047変異はPCR産物が得られた94症例中1症例(1.1%)に認められ、変異アリル頻度は5-10%であった。
2. Codon545変異型症例と野生型症例において5年全生存率(OS),5年無再発生存率(RFS)に有意な差は認められなかった。
3. Stage II/IIIの125症例(手術単独群, n=80 および手術+S-1投与群, n=45)を対象に生存解析を行った。5年OSはS-1投与群で75.0%,手術単独群で66.2%であり,5年RFSはS-1群で68.4%,手術単独群で62.5%であった。これをPI3K伝達経路関連タンパク発現の有無で層別化した。p-PI3Kとp-mTORでは手術群,S-1群ともに予後との間に有意な差は認められなかった。p-AKTでは,S-1投与群において有意な差は認められなかったが,手術単独群のOSはp-AKT(+)で77.4%,p-AKT(-)で51.4%( $p=0.03$ ; HR, 2.19; 95%CI, 1.06-4.77)であり,RFSはp-AKT(+)で75.0%,p-AKT(-)で54.1%( $p=0.01$ ; HR, 2.45; 95%CI, 1.20-5.28)であった。PTENでは,手術群での術後最初の2年間はOS,RFSともにPTENの発現に関係なく同等の生存率を示したが,術後2年以降は生存率に差が生じ,OS,RFSはPTEN(-)よりもPTEN(+)  
で高かった。
4. p-AKT, PTENの発現と臨床病理学的因子との間に相互作用は認められなかった。

### IV. 結 語

胃癌患者においてPIK3CA codon545, codon1047は低アリル頻度変異であるが,その変異クローンが予後に影響を及ぼす可能性は極めて限定的と考えられた。PI3K伝達経路関連タンパクの中でp-AKTとPTENがともに独立した胃癌術後の予後予測因子である可能性が示唆された。p-AKT(+)は術後補助化学療法の有無に関わらず比較的良好な予後を得られ,p-AKT(-)は積極的に術後補助化学療法を行うべき症例と考えられた。PTEN発現の有無は術後2年以降の予後に影響を与える予測因子であると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 滝川 康裕 (内科学講座消化器内科肝臓分野)

副査 教授 伊藤 薫樹 (腫瘍内科学科)

副査 講師 上杉 憲幸 (病理診断学講座)

進行胃癌の根治切除後の予後は改善しているが、30-40%に再発、転移が認められる。その要因の一つとして、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) の変異による活性化の関与が示唆されている。本論文は、PI3K の変異が胃癌細胞の生物学的悪性度を高め、予後を悪化させているとの仮説の下、PI3K の変異および関連シグナル物質の発現、活性化と臨床的予後との関連を解析した論文である。その結果、PI3K の変異は直接的には胃癌の予後と関連しなかったが、PI3K の拮抗的酵素である PTEN の発現が2年後以降の予後に影響すること、PI3K の下流シグナル分子である AKT リン酸化が予後の改善に寄与することを見出した。

本論文の結果は、進行胃癌手術後の再発、転移の危険群を同定し補助化学療法の対象として選別することに繋がる研究であり、学位に値する。

## 試験・試問の結果の要旨

進行胃癌の一般的治療法と予後、胃癌細胞のシグナル伝達の解析手法、免疫組織学的解析手法について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成については、剽窃・盗作などの研究不正はないことを確認した。

## 参考論文

- 1)  $\alpha$ -Amanitin Restrains Cancer Relapse from Drug-Tolerant Cell Subpopulations via TAF15 (RNA ポリメラーゼ阻害剤による 薬剤寛容性細胞集団の出現抑制および癌性腹膜炎の予防) (久米 浩平, 他 11 名と共著)  
Scientific Reports 16 巻, 6 号 (2016)
- 2) Non-invasive positive pressure ventilation for elderly patients after abdominal surgery: Results from a Japanese rural community hospital (地域中核病院における高齢者開腹手術後の非侵襲的陽圧換気方法 (NPPV) の検討) (石黒 保直, 他 8 名と共著)  
Jichi Medical University Journal 36 巻 (2014)