

論文内容の要旨

*NFE2L2*変異陽性食道扁平上皮癌の治療抵抗性に関する研究

(伊藤浩平, 佐々木章, 岩谷岳)

(岩手医学雑誌 75 巻, 4 号 令和 5 年 10 月掲載)

I. 研究目的

食道扁平上皮癌 (以下, 食道癌) は予後不良な癌の 1 つである. 進行食道癌治療では初回治療として化学療法が行われ, その治療前効果予測はきわめて重要である. *NFE2L2* 変異症例は野生型症例に比べ有意に予後不良であることを報告されている. 本研究では食道癌症例を対象とし *NFE2L2* 変異の有無が化学療法の治療効果予測因子となりうるかを検討した.

II. 研究対象ならび方法

次世代型シーケンサー (NGS) による原発巣変異解析により *NFE2L2* および *KEAP1* 変異状況が確認された 61 症例の食道癌患者を対象とした. NGS 解析結果から *NFE2L2* および *KEAP1* 遺伝子の変異症例割合, 変異部位, 変異アレル頻度 (variant allele frequency: VAF) を抽出した. *NFE2L2* 変異状況における初回治療効果を Fisher's exact test により, *NFE2L2* 変異症例における治療効果別の原発巣変異アレル頻度を Mann-Whitney test を用い比較した. また, 全生存期間, 無増悪生存期間を Kaplan-Meier 分析及び Log-rank 検定により比較した (Graph Pad Prism 9).

当教室で保有する食道扁平上皮癌細胞株 11 株 (TE1, TE6, TE8, TE9, TE10, KYSE70, KYSE150, KYSE180, KYSE410, KYSE450, KYSE520) についてサンガーシーケンス法により *NFE2L2* 変異状況を確認した. 各細胞株の *NFE2L2* 変異状況による抗癌剤 (cisplatin, docetaxel, 5-FU) の 50% 増殖阻止濃度 (GI_{50}) を CCK-8 assay (Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan) を用いて計測した (Mann-Whitney test).

III. 研究結果

1. 61 症例中 *NFE2L2* 変異は 13 例 (21.3%), *KEAP1* 変異は 4 例 (6.6%) に認められた. *NFE2L2* 変異 16 変異中 13 変異 (81.3%) は Keap1 結合ドメインであるエクソン 2 に集中していた.
2. 初回手術症例を除いた 50 例における初回治療効果判定では, 奏効率 (response rate) は *NFE2L2* 変異症例では 25.0% (2/8), *NFE2L2* wildtype 症例では 71.4% (30/42) と wildtype 群で有意に高かった ($p = 0.02$, Fisher's exact test).
3. 初回治療における進行例 (progressive disease: PD) の割合は *NFE2L2* 変異症例では 8

例中 5 例 (62.5%), wildtype 症例では 42 例中 6 例 (14.3%) と変異群で有意に多かった ($p < 0.01$, Fisher's exact test).

4. 初回 docetaxel/cisplatin/5-FU (DCF) 療法を施行した 43 例のうち *NFE2L2* mutant でかつ変異アリル頻度 20%以上の 5 症例はそれ以外の 38 例に比べ有意に予後不良であり ($p = 0.03$, Log-rank test), 無増悪生存率も有意に低かった ($p < 0.0001$, Log-rank test).
5. 食道癌細胞株 11 株におけるサンガーシークエンスによる *NFE2L2* エクソン 2 変異解析では 4 株 (36.4%) に変異を認めた.
6. 抗癌剤 (cisplatin, 5-FU, docetaxel) に対する耐性の検討では, 全薬剤では *NFE2L2* 変異細胞株は野生型株に比し有意に GI_{50} が高かった ($p < 0.01$, Mann-Whitney test). 薬剤別では, cisplatin が *NFE2L2* 変異細胞株で有意に高かった. 5-FU および docetaxel では変異株と野生型株で有意な差はみられなかったものの, 野生型株では低く変異型株で高い傾向が見られた ($p < 0.01$, Mann-Whitney test).

IV. 結 語

食道癌症例の約 20%に *NFE2L2* エクソン 2 変異が検出され, 変異症例は野生型症例に比べ化学療法の治療効果が低く, 予後不良であることを明らかにした. また *NFE2L2* 変異による薬剤抵抗性は食道癌 key drug である cisplatin で強く, *NFE2L2* 変異状況により食道癌化学療法抵抗性の予測が可能であることが示唆された.

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 板持 広明 (臨床腫瘍学講座)

副査 教授 前沢 千早 (医歯薬総合研究所：腫瘍生物学研究部門)

副査 講師 馬場 誠朗 (外科学講座)

早期癌を除く食道癌症例に対する初回治療として主に化学療法が施行されている。本研究論文は、酸化ストレス応答転写因子 *Nrf2* に着目して、食道扁平上皮癌患者 61 例の原発巣組織検体を用い、*NFE2L2* 遺伝子変異と初回化学療法感受性や患者の予後との関連を検討した論文である。*NFE2L2* 変異は 13 例 (21.3%) にみられた。初回治療に対する奏効率は、*NFE2L2* 変異症例で 25.0% (2/8)、*NFE2L2* wild type 症例で 71.4% (30/42) であり、変異群で有意に低かった。初回 DCF (docetaxel/cisplatin/5-fluorouracil) 療法施行例の全生存率および無増悪生存率は、ともに *NFE2L2* 変異症例 (変異アレル頻度 $\geq 20\%$) で他の症例に比して有意に低かった。一方、食道癌由来細胞株 11 株を用いた検討では、cisplatin に対する 50% 増殖阻止濃度は、*NRF2L2* 変異細胞株で野生型株に比して有意に高かった。このことは、食道癌において *NFE2L2* 変異が初回治療の感受性や患者の予後に関与している可能性を初めて示した論文である。

本論文は、食道癌に対する治療効果予測に、*NFE2L2* 変異の検索が有用である可能性を示した研究といえる。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

臨床データの統計解析方法やその解釈、基礎実験の手技や解析方法、実地臨床における将来展望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、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正はないことを確認した。

参考論文

- 1) 上行結腸軸捻転に対して回盲部切除を行った 1 例
(伊藤浩平 他 4 名と共著)
岩手医学雑誌, 74 巻, 1 号 (2022): p31–36.
- 2) 人工肛門造設部位を用いた単項式腹腔鏡下人工肛門閉鎖術—バリウムによる S 状結腸穿通術後の 1 例—
(塩井義裕 他 5 名と共著)
日本内視鏡外科学会雑誌, 26 巻, 2 号 (2021): p150–153.