

氏名	高橋 直樹		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博乙第 2833 号		
学位授与年月	平成 29 年 4 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<i>KRAS</i> 野生型切除不能大腸癌に対する抗 EGFR 抗体治療における血清バイオマーカー解析		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	佐藤 豊実
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	長谷川 雄一
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	鄭 允文
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	加野 准子

### 論文の内容の要旨

高橋直樹氏の博士学位論文は、切除不能大腸癌に対する抗 EGFR 抗体治療における血清バイオマーカーとしての血清リガンド蛋白の有用性を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

著者の研究目的は、代表的なリガンド蛋白の血清濃度を測定し、臨床情報（患者背景、治療奏効、生存期間など）から、治療効果ならびに予後に関するバイオマーカーを探索することである。悪性腫瘍において、種々のリガンド蛋白は膜貫通型増殖因子受容体を介して、腫瘍の増殖、分化、転移、生存などに大きく関与しており、これまで、大腸癌における上皮成長因子受容体(epidermal growth factor receptor: EGFR)に対する抗体治療薬 cetuximab あるいは panitumumab の効果予測もしくは予後に関する様々なバイオマーカー研究が行われているが、血中のリガンド濃度とこれら分子標的治療薬の効果や予後との関連は明らかになっていないとのことである。そこで、これら抗 EGFR 抗体が投与された患者の治療開始前の血清検体を利用し本研究が行われたものである。

著者の研究対象は、2008 年 8 月から 2011 年 8 月の間で、国立がん研究センター中央病院消化管内科で抗 EGFR 抗体の治療を受けた *KRAS* exon 2 遺伝子野生型切除不能進行再発大腸癌の患者である。また、前治療としてフルオロピリミジンを含めた標準治療を受けている既治療例で、治療前と治療増悪時に血清検体が凍結保管されている患者が選択されている。適格規準を満たした 113 名の *KRAS* 野生型の大腸癌患者のうち、血清検体が十分量保管されていた 103 名を選択している。

著者が採った方法はリガンド蛋白の血清濃度を ELISA 法にて測定するものである。過去の報告から抗 EGFR 抗体に関与していると考えられる代表的なリガンド (Epidermal growth factor、transforming growth factor- $\alpha$ 、amphiregulin、epiregulin [EREG]、neuregulin、hepatocyte growth factor [HGF]、insulin-like growth factor-1) の ELISA 測定が行われている。リガンド蛋白の cut-off 値は、中央値ならびに ROC 曲線解析による至適値として評価が行われた。対象患者のパラフィン包埋組織を用いて *KRAS*、*NRAS*、*BRAF* および *PIK3CA* の遺伝子変異解析も同時に行われている。なお、本研究は国立がん研究センター中央病院倫理審査委員会の承認を得て行われていることを確認した。

著者が得た結果は、まず、血清リガンド蛋白の cut-off 値を中央値とした場合に、生存曲線では HGF ならびに EREG の高値群は低値群と比較して、無増悪生存期間 (PFS)、全生存期間 (OS) が有意に短かったことである。多変量解析においては、HGF 高値は PFS ならびに OS の、EREG 高値は PFS の独立した予後不良因子である事も明らかにした。奏効率 (RR) においては、EREG 低値群では、高値群と比較して有意差はないが良好な傾向が認められたとしている。病勢コントロール割合 (DCR) は、有意差はないが EREG ならびに HGF 低値群で良好な傾向が認められたとのことである。*KRAS*、*NRAS*、*BRAF*、*PIK3CA* のすべてに変異のない All-wild type の 57 症例においても、HGF ならびに EREG の高値群と低値群の間で、PFS あるいは OS において有意差を認め、その差は *KRAS* 野生型よりも多いことを示している。RR ならびに DCR においては、EREG 低値群で有意に良好な事を明らかにした。病勢増悪時の血清濃度を測定した結果を含めて解析すると、EREG、HGF の治療前濃度が高値かつ増悪時に血清濃度上昇を認める症例は予後不良であり、逆に治療前濃度が低値かつ増悪時に血清濃度上昇がない症例は予後良好との結果を得ている。

著者の考察として、*KRAS* に遺伝子変異が認められる症例では、抗 EGFR 抗体の治療効果は *KRAS* 遺伝子変異の症例では期待できず、上流シグナルであるリガンド蛋白の発現が抗 EGFR 抗体の治療効果に影響を与える事が知られており、同様に、本研究においても、*KRAS* exon 2 野生型において血清 EREG、HGF の血清リガンド蛋白濃度が高い症例で予後が不良であったとしている。また、下流シグナルの影響の少ない症例において、リガンド蛋白の発現がバイオマーカーとしてより有望であるとの推察を行っている。

本研究は血清検体を用いたバイオマーカー研究であるが、腫瘍組織を採取するよりも、検査による侵襲性が少ないこと、治療直前の状態を評価することをメリットとして挙げている。腫瘍組織内と血液中のリガンド蛋白発現には相関関係がないと過去の報告があり、リガンドの遺伝子転写後の修飾が関与している可能性や血液の場合には腫瘍だけでなく正常組織の影響も受けている可能性など挙げられるが、現時点で明らかとなっていないとの研究成果の限界についても記述している。

著者は結論として、①血清リガンド蛋白のうち、HGF ならびに EREG は、切除不能大腸癌の抗 EGFR 抗体の奏効ならびに予後に関与している可能性を示唆した。②治療前の EREG ならびに HGF が高値の場合には予後不良であり、治療後も濃度が上昇するサブグループも予後が悪い傾向が認められた。③下流シグナル遺伝子変異のない症例において、リガンド蛋白の発現は抗 EGFR 抗体に影響を与えることを示唆した。その上で、今後は前向き試験の検体を用いて、本研究の結果の再現性や適切な cut-off 値の設

定などの検討の必要性を記述し、今後の研究の将来的展開にも触れている。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

高橋直樹氏の学位論文は2014年から2016年にかけてBritish Journal of Cancer 誌の2編、Archives of Medical Research 誌の1編 Cancer Science 誌の1編の合計4件をベースに記述されたものであり、高橋氏の研究分野に関する知識の広さと考察能力の高さに基づいて記述されており、論文自体の学術的な質が極めて高い。加えて、高橋氏は、今後、本基礎研究を臨床応用へと発展させるビジョンを有している。

平成29年3月6日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、学力の確認を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。