

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域消化器外科学教育研究分野 久保田隼介
<p>(論文題目)</p> <p>Exploration of Malignant Characteristics in Neoadjuvant Chemotherapy-Resistant Rectal Cancer, Focusing on Extramural Lesions (壁外病変に着目した、術前化学療法抵抗性直腸癌における病的特徴の探索)</p>	
<p>【背景】</p> <p>直腸癌において、壁外静脈侵襲 (EMVI) および腫瘍結節 (TD) を含む壁外病変は予後不良因子として知られている。また、術前治療後に壁外病変が消失した症例の予後は良好である一方で、術前治療後に壁外病変が残存する症例は、R0 切除を行った後でも高率に再発をきたし、極めて予後不良であると報告されている。このような症例の予後を改善するために Total Neoadjuvant Therapy (TNT) や新規治療戦略の確立が世界的に期待されている。しかしながら、直腸癌の治療抵抗性に寄与する生物学的特徴の大部分は未解明である。そこで、本研究は、(1) プロテオーム解析により、EMVI および TD を有する術前化学療法 (NAC) 奏功例と抵抗例における発現タンパク質の差異を明らかにすること、および (2) 免疫組織化学染色により、(1) で同定したタンパク質の発現と治療抵抗性との関連を検証することを目的としている。</p> <p>【方法】</p> <p>(1) 弘前大学医学部附属病院で 2015 年から 2021 年の期間に NAC 後に根治手術を受けた局所進行下部直腸癌のうち、NAC 前後に MRI による EMVI、TD の評価を行った 52 例を対象とした。NAC 前 EMVI 陽性または TD 陽性例を選択し、NAC 奏功群 (NAC 後 EMVI 陰性かつ TD 陰性)、NAC 抵抗群 (NAC 後 EMVI 陽性または TD 陽性) の 2 群に分類した。各群の外科切除標本から直腸癌組織を採取し液体クロマトグラフィータンデム質量分析 (LC-MS/MS) を行った。データベースを基に (KEGG Pathway Database) パスウェイ解析を行った。同定された候補タンパク質を用いて免疫組織化学染色を行い、解析結果を組織学的に検証した。</p> <p>(2) 2015 年から 2020 年の期間に術前 S-1 + Oxaliplatin 療法後に根治手術を受けた局所進行下部直腸癌 57 例を対象とした。対象を NAC 施行後の組織学的治療効果に基づき Grade 1a、1b、2、3 の 4 群に分類した。外科切除標本および生検標本を用いて、(1) で同定したタンパク質の免疫組織化学染色を行い、タンパク質の発現と NAC 治療効果の関連を検討した。さらに、生存解析を行い、タンパク質発現と予後との関連を検討した。</p> <p>【結果】</p> <p>(1) 52 例のうち、壁外病変陰性群は 28 例 (53.8%)、壁外病変陽性群は 24 例 (46.2%) であった。陽性群のうち、NAC 奏功群は 9 例 (37.5%)、NAC 抵抗群は 15 例 (62.5%) であった。生存解析の結果、NAC 抵抗群の無再発生存期間は局所再発と遠隔再発の両方において有意に短かった。対象症例のうち、解析可能であった NAC 奏功群 3 例、NAC 抵抗群 6 例を対象に LC-MS/MS を行った結果、1331 種類のタンパク質が同定された。判別分析の結果、207 種類 (15.6%) に有意な変化が認められた。パスウェイ解析の結果、2 群間で有意な変化を示したパスウェイのうち Sulfur metabolism に着目した。含硫アミノ酸であるシステイン、メチオニンの代謝異常が悪性腫瘍に関連することが知ら</p>	

れているが、これらの代謝に直接関連する Selenium-binding protein 1 (SELENBP1) の発現は NAC 抵抗群において NAC 奏功群の 1/3 以下に減少していた。免疫組織化学法による SELENBP1 の発現評価を行った結果、プロテオーム解析の結果と同様に、NAC resistant 群の腫瘍細胞で SELENBP1 の発現が低下していることが組織学的にも示された。さらに、SELENBP1 は直腸癌壁外病変においても低下が確認され、主病変と壁外病変に共通する性質であることが示された。

(2) NAC 治療効果に基づき、Grade 1a 群 25 例 (43.9%)、1b 群 15 例 (26.3%)、2 群 8 例 (14.0%)、3 群 9 例 (15.8%) に分類した。外科切除標本を用いて、免疫組織化学染色で SELENBP1 の発現について評価を行った。Grade 1a 群の腫瘍細胞では、Grade 1b 以上の群と比較して有意に SELENBP1 の発現が低下していた。さらに、NAC 前の生検標本でも評価を行ったところ、Grade 1a 群で有意に SELENBP1 の発現が低下しており、外科切除標本と同様の傾向が認められた。症例ごとの NAC 前後での SELENBP1 発現をスコア化して比較すると、Grade 1a 群における SELENBP1 発現は NAC 前後で一貫して低スコア帯で推移しており、Grade 1b 群、Grade 2 群ではそれぞれ Grade 1a 群の約 2 倍、3 倍のスコア帯で推移していた。各群で NAC 前後の SELENBP1 発現に有意な変化がなく同等であった。また、SELENBP1 の発現には腫瘍内不均一性が認められたが、腫瘍表層のみを採取する生検標本と外科切除標本の腫瘍全体における SELENBP1 発現スコアは同等であり、生検標本が腫瘍全体の SELENBP1 発現を反映すると考えられた。これらの結果から、生検標本において SELENBP1 の発現を評価することで、NAC 抵抗性の指標となる可能性が示唆された。

さらに、SELENBP1 発現と患者予後との関連を検討した。生存解析の結果、外科切除標本における SELENBP1 低発現群の無再発生存期間は有意に低下していた。

【結語】

本研究では、外科切除標本を用いたプロテオーム解析によって EMVI および TD を有する NAC 抵抗性直腸癌と NAC 奏功性直腸癌における発現タンパク質を比較し、NAC 抵抗性直腸癌に特有の生物学的特徴の一つを明らかにした。さらに、SELENBP1 の発現低下が実際に術前 S-1 + Oxaliplatin 療法への抵抗性と、予後不良に関連することを示した。SELENBP1 は治療効果および予後予測因子となり得ることが示唆された。