

学位論文の内容の要旨

論文提出者氏名	横川 美咲
論文審査担当者	主 査 三浦 雅彦 副 査 渡部 徹郎、 池田 正明
論 文 題 目	Co-expression of EGFR and MET has a synergistic effect on the prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma

(論文内容の要旨)

<緒言>

口腔癌の罹患数は全世界で年間 30 万人といわれており、その組織型は扁平上皮癌が最も多い。近年の診断・治療技術の進歩にもかかわらず、口腔扁平上皮癌(OSCC)患者の生存率は約 60%と、過去 20 年で 5%しか向上していない。頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)の 80%以上は、上皮成長因子受容体(EGFR)が過剰発現しており、腫瘍浸潤や転移、放射線・化学療法耐性に関係があるとされている。また、チロシンキナーゼ受容体(RTK)である間葉上皮転換因子(MET)も癌浸潤のメディエーターとして注目されている。及川らの先行研究では、ターゲットリシーケンス(TAS)を用いて RTK の遺伝子増幅が遠隔転移発現および予後に関与していることを示した。本研究では免疫組織化学染色(IHC)を用いて、OSCC における遺伝子増幅およびタンパク発現と予後との関係を明らかにすることを目的とした。

<方法>

先行研究で用いた 220 例のうち、組織標本が利用可能であった 208 例を対象とした。RTK 遺伝子増幅または遠隔転移が認められた 63 例については EGFR、ERBB2、FGFR1、FGFR3、ERBB4、MET、FLT3 の IHC を施行した。残りの 145 例については EGFR、MET の IHC を施行した。HER2 の染色スコアは、スコア 0 : 染色されず、1+ : 弱く染まる、2+ : 中等度染まる、3+ : 強く染まるの 4 段階とした。EGFR では IHC スコア 3+ を高発現、MET ではスコア 2+以上を高発現と定義した。さらに RTK 発現と 50 種のがん関連遺伝子の変異・増幅・欠失に関する TAS データとの関連についても検討した。統計分析は PASW Statics ver.18 を用いた。本研究で用いた OSCC 208 症例の mRNA 発現データは取得できないため、The Cancer Genome Atlas (TCGA)のレポジトリから生存分析を行うオンラインデータベースである Kaplan-Meier plotter (www.kmplot.com)を用いて EGFR および MET の mRNA 発現の意義を評価した。

<結果>

63 例の IHC では、EGFR、ERBB4、MET を除く RTK では約 8 割が染色されず、ERBB4 では染色スコアと予後に相関関係は認めなかった。残り 145 例を含めた EGFR の IHC の結果は、スコア 0 : 23 例、1+ : 46 例、2+ : 79 例、3+ : 60 例であった。EGFR のゲノム増幅が認められた症例はすべて IHC スコア 2+または 3+で、それぞれの 7.6%、15%を占め、EGFR の遺伝子増幅とタンパク発現に相関が認められた($p=0.024$)。遠隔転移は IHC スコア 3+の症例の 13.3%に認められた。MET の IHC の結果は、スコア 0 : 75 例、1+ : 92 例、2+ : 32 例、3+ : 9 例であった。MET のゲノム増幅は 3 例と少数であり、IHC スコアとの関連は認められなかった。スコア 2+、3+において、遠隔転移はそれぞれ 21.9%、22.2%に認められた($p=0.026$)。

MET が高発現であった 41 例中 9 例(22.0%)、EGFR および MET の両方が高発現であった 15 例中 6 例(40.0%)で遠隔転移を認め、それぞれ統計的に有意差を認めた($p=0.003$ 、 $p=3.41 \times 10^{-5}$)。EGFR 発現別の 5 年全生存率は、高発現 68.8%、低発現 86.2%で、MET では高発現 64.9%、低発現 85.9%であった。本研究で用いた OSCC 208 症例の mRNA 発現データは取得できないため、Kaplan-Meier plotter を用いて EGFR および MET の mRNA 発現の意義を評価した。TCGA の HNSCC 症例において、EGFR mRNA 高発現は有意に予後不良であった。また、MET mRNA 高発現も予後不良であった。一方、EGFR または MET 高発現に加えて TP53 変異を伴う症例において、

TP53 変異の相加効果としての生存率の低下は認めなかった。さらに、EGFR および MET の両方が高発現している症例は 15 例と少ないながら、5 年全生存率は 22.0%と、それ以外の症例の生存率 85.8%より有意に低かった($p < 1.0 \times 10^{-9}$)。多変量解析では EGFR と MET の IHC スコアが独立した予後予測因子であることが明らかとなった。

<考察>

RTK は細胞増殖、分化、代謝、運動性などの制御に関わる膜貫通タンパクで、RTK 機能の調節不全は細胞間および細胞内シグナル伝達を乱すことが知られており、HNSCC の多くで EGFR が過剰発現している。セツキシマブは、細胞表面に存在する EGFR のリガンド結合部位に、EGF の 5 倍の親和性を持って EGF と競合的に結合し、EGFR の活性化、二量体化を阻害することにより抗腫瘍効果を発揮する。局所進展例に対するセツキシマブ併用放射線療法と再発転移例に対する First line としてのプラチナ製剤化学療法によって、奏効率と生存率は有意に上昇することが報告されている。

舌癌症例の HGF、MET 染色陽性率はそれぞれ 57.3%、54.1%であり、OSCC での MET 高発現は HGF-MET オートクリン活性によるとの報告もある。MET 経路と他のシグナル伝達経路間には様々なクロストークがあり、MET と EGFR、ERBB2、またはインスリン様成長因子 1 受容体 (IGF1R) との機能的クロストークは、がんの進行と治療抵抗性の主要な要因であると考えられている。また、SMAD4 非存在下での TGF- β と MET 経路の活性化はセツキシマブ耐性を誘導したとの報告がある。多くの癌において、上皮間葉移行(EMT)の再活性化が腫瘍の増殖と転移に密接に関連しているとされ、EMT の主な誘導因子である成長因子とサイトカインによってシグナル伝達経路は多様となる。本研究では MET 高発現症例の 20%以上と、EGFR および MET 両高発現症例の 40%に遠隔転移が認められた。また、c-SRC 発現細胞株に対して EGFR 阻害剤エルロチニブと MET 阻害剤 PF04217903 の 2 剤を作用させたところ、細胞の生存率が低下し腫瘍体積が減少したとの報告があることから、EGFR と MET の相互作用は、HNSCC 細胞の抗 EGFR 抗体への耐性につながることを示唆された。

本研究において EGFR と MET 両高発現症例の予後は著しく不良であった。したがって、OSCC 患者においては、EGFR および MET の IHC スクリーニング後に EGFR および MET 阻害剤の併用療法を検討すべきであると考えられた。

<結論>

本研究において、RTK の遺伝子増幅とタンパク発現は必ずしも相関しないことが示された。EGFR と MET 両高発現症例は著しく予後不良であり、そのような症例に対しては EGFR および MET の阻害剤併用療法をすべきであると考えられた。

論文審査の要旨および担当者

報 告 番 号	甲 第 6020 号	横 川 美 咲
論文審査担当者	主 査 三浦 雅彦 副 査 渡部 徹郎、 池田 正明	
論 文 題 目	Co-expression of EGFR and MET has a synergistic effect on the prognosis of patients with oral squamous cell carcinoma	
(論文審査の要旨) <p>世界では年間 30 万人が口腔癌に罹患しており、その組織型は扁平上皮癌が最も多いとされる。診断・治療技術の進歩にもかかわらず、口腔扁平上皮癌(OSCC)患者の生存率は約 60%と、20 年で 5%の向上にとどまっている。頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)の 80%以上は、上皮成長因子受容体(EGFR)が過剰発現しており、これは腫瘍浸潤や転移、放射線・化学療法耐性に関係があるとされている。チロシンキナーゼ受容体(RTK)である間葉上皮転換因子(MET)も癌浸潤のメディエーターとして注目されている。及川らの先行研究では、ターゲットリシーケンス(TAS)を用いて OSCC 症例の RTK の遺伝子増幅が遠隔転移および予後と相関していることを示した。横川はこれらの点に着目し、全 208 例のうち、RTK 増幅または遠隔転移が認められた 63 例について EGFR、ERBB2、FGFR1、FGFR3、ERBB4、MET、FLT3 の免疫組織化学染色(IHC)を施行した。この結果を基に予後との相関が示唆された EGFR、MET について、残り 145 例について IHC を施行した。遺伝子増幅およびタンパク発現と予後との関係を明らかにすることを目的として本研究を行った。</p> <p>本研究で得られた結果は以下の通りである。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 63 例の予備的な IHC の結果、ERBB2, FGFR1/3, FLT3 では 8 割が染色されず、ERBB4 は 95%が染色されたが、予後との相関は認めなかった。 2) EGFR の IHC の結果はスコア 0 : 23 例、1+ : 46 例、2+ : 79 例、3+ : 60 例であった。<i>EGFR</i> のゲノム増幅が認められた症例は、すべて IHC スコア 2+または 3+で、それぞれの 7.6%、15%を占め、EGFR の遺伝子増幅とタンパク発現に相関が認められた ($p=0.024$)。遠隔転移は IHC スコア 3+の 13.3%に認めていた。 3) MET の IHC の結果は、スコア 0 : 75 例、1+ : 92 例、2+ : 32 例、3+ : 9 例であった。<i>MET</i> のゲノム増幅は 3 例と少数であったため、IHC スコアとの関連は認められなかった。スコア 2+、3+では、それぞれ 21.9%、22.2%の症例において遠隔転移を認めた ($p=0.026$)。 4) 遠隔転移は、MET 高発現 41 例中 9 例(22.0%)、EGFR と MET 高発現 15 例中 6 例(40.0%)で認め、統計的に有意差を認めた($p=0.003$、3.41×10^5)。 5) 5 年全生存率は、EGFR 高発現 68.8%、EGFR 低発現 86.2%で、MET 高発現 64.9%、MET 低発現 85.9%であった。 6) TCGA の HNSCC 症例において Kaplan-Meier plotter を用いて <i>EGFR</i> および <i>MET</i> の mRNA 発現の意義を評価した結果、<i>EGFR</i> mRNA 高発現は有意に予後不良であった。また、<i>MET</i> mRNA 高発現も予後不良と関連していた。 7) EGFR および MET の両方が高発現している症例は 15 例と少ないながら、5 年累積全生存率は 22.0%と、その他の症例の生存率 85.8%と比し有意に低かった($p<1.0 \times 10^{-9}$)。 		

8) 多変量解析では EGFR と MET の IHC スコアが独立した予後予測因子であることが示された。

以上の結果から、横川は口腔扁平上皮癌患者において EGFR と MET の高発現は予後悪化に相乗効果をもたらすことを明らかにした。さらに、EGFR と MET のタンパク発現の評価は OSCC 患者の予後評価の一助となることが示唆され、OSCC 患者は EGFR および MET の阻害剤併用療法が検討されるべきであると推論した。この推論は適切なものと考えられる。この成果は口腔扁平上皮癌の予後予測および治療成績の向上に貢献し、今後さらに口腔がんの臨床・研究の進歩発展に大きく寄与するものと判断された。よって本論文は、博士（歯学）の学位申請を行うにあたり、十分に価値があるものと認められた。