

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 山本 有 祐

### 論文題目

Significance of GSTP1 for predicting the prognosis and chemotherapeutic efficacy in esophageal squamous cell carcinoma.

### 論文内容の要旨

食道癌は近年周術期化学療法が発展するも、術後早期から高率に再発を来す予後不良な難治性の癌である。食道癌の治療成績向上のためには予後予測マーカー及び化学療法耐性のバイオマーカーの同定が急務である。近年グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) はグルタチオン抱合反応を触媒し、薬物の結合タンパクとしても作用する多機能酵素として知られている。GSTのうちPiクラスのGSTP1は広く正常組織に発現している一方で、頭頸部癌、肺癌、大腸癌、食道癌などの多くの癌細胞で過剰発現している。GSTP1の過剰発現は悪性腫瘍の予後及び癌細胞の抗癌剤耐性獲得に影響を及ぼす可能性があるが、GSTP1の過剰発現と食道癌の予後及び抗癌剤耐性との関係は明らかにされていない。著者は食道癌外科的切除例におけるGSTP1の発現状況を評価し、GSTP1の発現量が食道癌術後の生命予後及び補助化学療法の耐性に与える影響について検討した。

2000年1月から2009年12月までにリンパ節郭清を伴う右開胸食道亜全摘術で肉眼的治癒切除を得られた75例を対象とした。31例(41%)で5FU+シスプラチンによる術後補助化学療法を施行した。食道癌におけるGSTP1の発現量を免疫組織学的に検討した。ホルマリン固定された検体を5 $\mu$ mに薄切し、脱パラフィン処理後オートクレーブ(95度、30分、pH6.0)で賦活化した。一次抗体として抗GSTP1抗体を用いて、ABC法で免疫染色を行った。染色したスライドの評価は2名で行った。食道癌領域のGSTP1の発現量によって90%未満染色のGrade 1(非過剰発現群)と90%以上染色のGrade 2(過剰発現群)に分類して評価した。研究者2名のGrade診断の一致率の評価を $\kappa$ スコアを用いて行った(slight:  $\kappa$ スコア0.00-0.20, fair:  $\kappa$ スコア0.21-0.40, moderate:  $\kappa$ スコア0.41-0.60, substantial:  $\kappa$ スコア0.61-0.80, almost perfect:  $\kappa$ スコア0.81-1.00)。また食道癌細胞株(TE2, TE5, TE9, TE13, KYSE70, KYSE170)のGSTP1タンパク発現量をウェスタンブロット法で評価し、正常ヒト線維芽細胞株であるWI-38と比較した。

ウェスタンブロット法で解析した結果、GSTP1タンパク発現は、正常ヒト線維芽細胞株であるWI-38に比べて、TE2, TE5, TE9, TE13, KYSE70, KYSE170の食道癌細胞株で高発現であった。免疫染色の結果36例(48%)がGrade 1, 39例(52%)がGrade 2に分類された。研究者2名によるGrade診断の一致率は94%、 $\kappa$ スコアは0.893とalmost perfectの診断一致率であった。食道癌全75症例の5年全生存率は63.5%であった。Grade 1の5年全生存率は78.5%、Grade 2の5年全生存率は51.2%でGrade 2がGrade 1よ

り有意に予後不良であった(log rank test,  $p=0.027$ )。GSTP1発現を含めた15個の臨床病理学的因子を用いて全生存期間に寄与する予後因子の解析をlog rank testを用いて行った結果、GSTP1発現 Grade 2の他に非治癒切除( $p=0.013$ )、下部食道癌( $p=0.048$ )、肉眼分類 3,4型( $p=0.001$ )、腫瘍径40mm以上( $p=0.022$ )、リンパ管浸襲( $p=0.007$ )、静脈浸襲( $p=0.019$ )、リンパ節転移( $p=0.006$ )が有意な予後不良因子であった。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析の結果、肉眼分類 3,4型(Hazard ratio: 4.200 (1.751-10.071),  $p=0.001$ )、リンパ節転移(Hazard ratio: 3.396 (1.335-8.637),  $p=0.010$ )、GSTP1発現 Grade 2(Hazard ratio: 2.704 (1.107-6.604),  $p=0.029$ )が独立した予後不良因子であった。術後補助化学療法を施行した31例におけるサブグループ解析ではGrade 2( $n=20$ )の5年全生存率は45.0%、Grade 1( $n=11$ )の5年全生存率81.8%で有意差はないものの、Grade 2はGrade 1と比較し予後不良の傾向を認めた( $p=0.081$ )。術後補助化学療法を施行しなかった44例ではGrade 1( $n=25$ )の5年全生存率は51.7%、Grade 2( $n=19$ )の5年全生存率は59.9%で予後に差を認めなかった( $p=0.979$ )。さらにStage II, III, IV症例( $n=53$ )においてGrade別に無増悪生存期間を術後補助化学療法の有無で比較検討した。Grade 1( $n=21$ )では術後補助化学療法施行群( $n=10$ )の5年無増悪生存率は80.0%、非施行群( $n=11$ )の5年無増悪生存率は20%で、有意差はなかったがGrade 1がGrade 2より無増悪生存率が良好な傾向を認めた( $p=0.067$ )。Grade 2( $n=32$ )では術後補助化学療法施行群( $n=19$ )と非施行群( $n=13$ )の間に無増悪生存率に有意差を認めなかった( $p=0.874$ )。10個の臨床病理学的因子を用いてGSTP1発現と相関する因子を $\chi^2$ 乗検定を用いて解析したところ、腫瘍径40mm以上( $p=0.015$ )、リンパ管浸襲( $p=0.030$ )、静脈浸襲( $p=0.024$ )がGSTP1発現と有意な相関を認めた。2項ロジスティック回帰分析の結果、腫瘍径40mm以上(相対危険度: 4.193(1.478-11.897),  $p=0.007$ )と静脈浸襲(相対危険度: 3.918(1.367-11.230),  $p=0.011$ )がGrade 2と相関する独立した危険因子であった。

本研究は食道癌におけるGSTP1の発現状況を細胞株及び外科的切除標本で評価し、食道癌の悪性度、生命予後及び抗癌剤の効果との関連を探索したものである。本研究の結果、食道癌におけるGSTP1の発現量を調べることにより、予後のバイオマーカーとしてだけでなく、抗癌剤の効果を予測することが可能となる可能性が示唆された。