
 *
 *
 * **高知大学学位授与記録** *
 *
 *

本学は、次の者に博士（医学）の学位を授与したので、学位規則（昭和28年文部省令第9号）第8条の規定に基づき、その論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

目 次

学位記番号	氏 名	学 位 論 文 の 題 目	ページ
甲総医博第82号	岩部 純	<i>FGF5</i> methylation is a sensitivity marker of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy (FGF5メチル化は食道扁平上皮癌の根治的化学放射線療法に対する感受性マーカーである)	1

氏名(本籍)	岩部 純 (兵庫県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲総医博第82号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	令和元年11月26日
学位論文題目	<i>FGF5</i> methylation is a sensitivity marker of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy (<i>FGF5</i> メチル化は食道扁平上皮癌の根治的化学放射線療法に対する感受性マーカーである)
発表誌名	Scientific Reports, 9, Article number: 13347 2019年9月16日

審査委員	主査	教授	内田	一茂
	副査	教授	井上	啓史
	副査	教授	降幡	睦夫




論文の内容の要旨

論文審査の結果の要旨

学位論文要旨

論文題目	<p style="text-align: center;">氏名</p> <p style="text-align: center;">岩部 純</p> <p><i>FGF5</i> methylation is a sensitivity marker of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy</p> <p>(<i>FGF5</i>メチル化は食道扁平上皮癌の根治的化学放射線療法に対する感受性マーカーである)</p>
<p>(論文要旨)</p> <p>食道扁平上皮癌における根治的化学放射線療法は主要な治療法のひとつである。根治的化学放射線療法に対する感受性の予測は食道扁平上皮癌を治癒に導くために重要であるが、そのバイオマーカーはほとんど存在しない。そこで、ゲノム網羅的変異解析・DNAメチル化解析の多層オミックス解析を行い、再現性の高いバイオマーカーを同定することを本研究の目的とした。</p> <p>67名の根治性化学放射線療法に感受性を示した群、50名の抵抗性を示した群から得られた合計117の食道扁平上皮癌の生検検体サンプルを、Screening set (n= 41)・Validation set (n=34)・Re-validation set (n= 42)の3コホートに分類した。</p> <p>Screening setにおいて、114遺伝子の体細胞変異の有無は根治的化学放射線療法の感受性との関連を示さなかった。一方、Infinium HumanMethylation450 BeadChipアレイを用いたゲノム網羅的DNAメチル化解析によって4カ所の遺伝子領域のメチル化が根治的化学放射線療法に対する感受性と関連する可能性が示され、<i>FGF5</i>と<i>ZNF585A</i>についてはbisulfite pyrosequencing法でも有意に関連した。<i>FGF5</i>の高メチル化が根治的化学放射線療法に対する感受性と関連していることをこの2遺伝子領域についてbisulfite pyrosequencing法によりValidation setで検証したところ、<i>FGF5</i>のメチル化は有意に($P= 0.001$)関連した。さらに、Re-validation setでも<i>FGF5</i>のメチル化は有意に($P= 0.020$)関連した。</p> <p>Validation set・Re-validation setを合計した76サンプルにおいてscreening setで樹立した閾値を用いて計算したところ、根治的化学放射線療法の感受性予測における<i>FGF5</i>メチル化の感度は45%・特異度は90%であった。多変量解析により、<i>FGF5</i>メチル化は臨床病理学的に独立した治療効果予測因子であることが明らかになった。</p> <p>食道扁平上皮癌細胞株において<i>FGF5</i>プロモーター領域のメチル化はその発現を抑制していた。シスプラチン(CDDP)処理により、3種の非メチル化細胞株では<i>FGF5</i>の発現誘導がみられる一方、2種のメチル化細胞株では誘導されなかった。さらにメチル化細胞株に<i>FGF5</i>を過剰発現させると、CDDPに抵抗性を示した。</p> <p>正常の食道扁平上皮細胞では<i>FGF5</i>は非メチル化状態で、発現はみられなかった。</p> <p>以上の結果から、<i>FGF5</i>は食道扁平上皮癌が化学放射線療法に曝露すると発現誘導され、増殖・生存シグナルとなる一方、メチル化されるとそのシグナルがなくなり、治療の感受性に寄与している可能性が示された。<i>FGF5</i>メチル化は食道扁平上皮癌の根治的化学放射線療法感受性に関する有用なバイオマーカーである可能性が明らかになった。</p>	

論文審査の結果の要旨

	氏名	岩部 純
審査委員	主査氏名	内田 一茂 
	副査氏名	井上 啓史 
	副査氏名	降幡 睦夫 

題目 *FGF5* methylation is a sensitivity marker of esophageal squamous cell carcinoma to definitive chemoradiotherapy

(*FGF5* メチル化は食道扁平上皮癌の根治的化学放射線療法に対する感受性マーカーである)

著者 Jun Iwabu, Satoshi Yamashita, Hideyuki Takeshima, Takayoshi Kishino, Takamasa Takahashi, Ichiro Oda, Kazuo Koyanagi, Hiroyasu Igaki, Yuji Tachimori, Hiroyuki Daiko, Hidetsugu Nakazato, Kazuhiro Nishiyama, Yi-Chia Lee, Kazuhiro Hanazaki, and Toshikazu Ushijima

発表誌名 Scientific Reports, 9, Article number: 13347
2019年9月16日 発行

要旨

【背景・目的】

食道扁平上皮癌（食道癌）の治療において根治的化学放射線療法は治療法のひとつであるが、40-50%は治療抵抗性を示し根治的な手術の機会を逸している可能性がある。放射線化学療法の感受性の予測するバイオマーカーがあれば、放射線化学療法の治療効果が期待できない症例についてははじめから手術を選択して治療後による合併症を回避することが可能になると考えられる。しかしいまのところ有望なバイオマーカーほとんど存在しないのが現状である。本研究では、申請者らは、遺伝子のメチル化機構に着目し、ゲノム網羅的変異解析、DNAメチル化解析による多層オミックス解析を行い、食道癌における根治的化学放射線療法の感受性を予測する有望なバイオマーカーを探索することを本研究の目的とした。

【方法】

食道癌患者から得られた生検サンプル 117 検体を、根治的化学放射線療法に感受性を示した群と抵抗性を示した群に分類した。さらにそれらを Screening set (n=41)、Validation set (n=34)、

Re-validation set (n=42)の3つのコホートに分類した。まず Infinium HumanMethylation450 BeadChip アレイ (イルミナ社) を用いてゲノム網羅的解析を行なった。その結果から導かれた有望なマーカーの候補に対して、さらに bisulfite pyrosequencing 法により解析を行った。

また得られたデータに関する遺伝子メチル化が治療効果にどのような関連性を持っているのかを検討するために、食道扁平上皮癌細胞株に対してシスプラチン処理したものを食道癌治療モデルとして解析を試みた。

【結果】

Screening set (n=41)において114遺伝子の体細胞変異の有無を解析したところ、根治的化学放射線療法の感受性とは解析した114遺伝子については変異の有無とは関連性を示さなかった。続いてゲノム網羅的DNAメチル化解析を行ったところ、4カ所の遺伝子領域(CpGサイト)のメチル化が根治的化学放射線療法に対する感受性と関連する可能性が示された。そのうち *FGF5* と *ZNF585A* については bisulfite pyrosequencing 法にて CpG サイトの DNA メチル化比率を解析したところ有意に関連性を示した。根治的化学放射線療法に対する感受性と関連していることの再現性を示すため、この2遺伝子領域について bisulfite pyrosequencing 法により Validation set (n=34) で検証したところ、*FGF5* のメチル化は有意な関連性を示した ($P=0.001$)。さらに再現性を示すために、Re-validation set (n=42) において解析したところ、同様に *FGF5* のメチル化は有意な関連性を示した ($P=0.020$)。

Validation set と Re-validation set を合計した76検体において、screening set (n=41) によって設定した閾値を用いて感度、特異度を計算したところ、根治的化学放射線療法の感受性予測における *FGF5* メチル化の感度は45%、特異度は90%であった。さらに年齢、性別、占拠部位、放射線量、TNM分類それぞれの項目、*FGF5* メチル化について臨床病理学的に単変量解析したところ、性別、TNM分類のそれぞれの項目、*FGF5* メチル化が有意な因子とされ、多変量解析を行うと *FGF5* メチル化が独立した治療効果予測因子であった。

最後に食道癌治療モデルの検討を行った。無処理の食道扁平上皮癌細胞株のうち *FGF5* プロモーター領域のメチル化高度に認められた3つの株については *FGF5* の発現は認められなかった。また *FGF5* プロモーター領域のメチル化が低い2つの株については *FGF5* が強く発現していた。*FGF5* プロモーター領域のメチル化が *FGF5* の発現を抑制するものと考えられた。次にシスプラチン処理を行った食道扁平上皮癌細胞株について検討すると、3種類の *FGF5* プロモーター領域の非メチル化細胞株では *FGF5* の発現誘導がみられるが、2種類のメチル化細胞株では誘導は認められなかった。また *FGF5* が過剰発現したメチル化細胞株では、シスプラチンに対して抵抗性を示した。一方、正常の食道扁平上皮細胞では、*FGF5* は非メチル化状態で発現は低かった。

以上のことより食道癌において *FGF5* は、化学放射線療法により誘導され癌細胞の増殖に寄与するが、*FGF5* プロモーター領域がメチル化されると *FGF5* が発現できなくなり治療に反応し細胞死に導くものと考えられた。

【結論】

申請者らは、*FGF5* メチル化が食道癌の根治的化学放射線療法の感受性予測に有用なバイオマーカーである可能性を示し、*FGF5* メチル化が食道癌の放射線化学療法においてどのような働きをするのかについて食道扁平上皮癌細胞株を用いた実験によって明らかにした。

以上の発表の後、公開審査にて質疑応答を行った。コホート分類の方法、感度に関する問題点、臨床応用の可能性について、今後この研究をどのように発展させるか等につ

いての質問と本研究の意義についてコメントがあったが、申請者はこれらの質問に対して一部の質問については事前に用意していたスライドを用いて的確かつ自分の意見を交えて明確に回答することができた。本研究結果は、今後食道癌に対する根治的科学的放射線療法の感受性予測を可能とし、実臨床に応用できる可能性があると予想され有意義な研究と考えられた。よって審査員一同は、本論文が高知大学博士（医学）に相応しい価値ある研究であると判断した。