

(様式4)

学位論文の内容の要旨

Endang Nuryadi 印

(学位論文のタイトル)

Mutational Analysis of Uterine Cervical Cancer That Survived Multiple Rounds of Radiotherapy
(放射線治療後の局所再発を繰り返した子宮頸癌症例の遺伝子変異解析)

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判

【背景】放射線治療は手術、化学療法と並ぶがん治療の3本柱のひとつである。近年、次世代シーケンサーをもちいた網羅的遺伝子変異解析の普及にともない、がんの遺伝子情報に基づく治療戦略の個別最適化「Precision Medicine」が化学療法の分野を中心に急速に発展している。しかし、Precision Medicineの放射線治療への応用 (Precision Radiotherapy)はあまり進んでいない。もしX線抵抗性に寄与する遺伝子変異プロファイルが同定されれば、同プロファイルはX線抵抗性腫瘍に高い抗腫瘍効果を発揮する重粒子線治療への症例層別化指標としてPrecision Radiotherapyに活用されうる。以上から、本研究では、X線抵抗性に寄与する遺伝子変異プロファイルの同定を目的とし、放射線治療後局所再発を繰り返した症例の遺伝子変異解析、既報のメタ解析および培養細胞実験による統合的解析をおこなった。

【方法】症例は34歳女性。子宮頸部腺癌、FIGO分類IB2期に対し広汎子宮全摘・両側付属器切除術および化学療法6コースを施行した。術後10ヶ月で膣断端再発し、根治的体外照射および¹⁹²Ir小線源治療を施行した。その18ヶ月後に局所再発し、根治的¹⁹²Ir小線源治療を施行したが、その14ヶ月後に再び局所再発した。強い放射線抵抗性を示した同症例について、放射線治療前の腫瘍および初回、2回目の放射線治療後の再発腫瘍の生検検体からDNAを抽出し、次世代シーケンサーをもちいたターゲットキャプチャシーケンス法により400種のがん関連遺伝子の体細胞変異を解析した。シーケンスデータをbioinformatics解析し、X線抵抗性への寄与が示唆される遺伝子変異プロファイルを探索した。cBioPortal、Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE)およびPubMedをもちいて既報データのメタ解析をおこない、同遺伝子変異プロファイルのX線感受性への寄与を調査した。Isogenic細胞株をもちいてコロニー形成法をおこない、同遺伝子変異プロファイルがX線感受性に与える影響を評価した。統計解析にはPrism 6およびEZRを使用した。

【結果】放射線治療前の腫瘍および初回、2回目の放射線治療後の再発腫瘍に共通してPIK3CA^{E545K}、KRAS^{G12D}、SMAD4^{R361CR361H}の体細胞変異が認められた。Bioinformatics解析の結果、前二者はがん原遺伝子の活性化型変異であり、後一者はがん抑制遺伝子の不活性化型変異であると推定された。cBioPortalに登録されたヒト腫瘍の遺伝子変異データを解析したところ、子宮頸癌においてPIK3CA変異は最も高頻度 (約20%)に認められる変異である一方で、KRAS変異とSMAD4変異の共在は過去に報告がないことが判明した。さらに、このKRAS/SMAD4変異型は2万例を超える多様ながん種の腫瘍においても頻度1.2%と稀であることが判明した。CCLEに登録されたヒトがん細胞株の遺伝子変異データを解析したところ、1.2% (12/1039細胞株)がKRAS/SMAD4変異型であった。コロニー形成法によるX線2Gy照射後の細胞生残率 (SF₂)に関する既報のメタ解析の結果、KRAS/SMAD4変異型細胞株 (n=12)におけるSF₂は、背景因子をマッチさせたKRAS/SMAD4野生型細胞株 (n=12)と比較して有意に高かった (0.58±0.08 vs. 0.43±0.16; P=0.01)。KRAS/SMAD4野生型の結腸癌細胞株SW48のSF₂は、KRAS^{G12D}導入かつSMAD4発現抑制により有意に上昇した (0.36±0.02 vs. 0.30±0.04; P=0.03)。

【考察】アポトーシス耐性はX線抵抗性の主要因のひとつであり、NF-κBは抗アポトーシス遺伝子

群の主要な転写調節因子である。**KRAS**活性化と**SMAD4**不活性化はともに**NF-κB**亢進に寄与する。以上から、本研究で同定された**KRAS**活性化型変異および**SMAD4**不活性化型変異は、**NF-κB**亢進によるアポトーシス耐性の誘導を介して**X線**抵抗性に寄与する可能性がある。また本研究では、放射線治療抵抗性症例の臨床シークエンス結果が培養細胞実験によって求められる**SF₂**の既報データのメタ解析結果と一致した。このことから、放射線抵抗性因子の探索における既報**SF₂**のメタ解析の有用性が示唆された。

【結論】臨床シークエンス、既報のメタ解析および培養細胞実験の統合的解析の結果、**KRAS**活性化型変異と**SMAD4**不活性化型変異の共在が腫瘍の**X線**抵抗性に寄与することが示唆された。本研究結果は放射線治療の個別最適化のための生物学的基盤情報になると考えられる。

(2019文字)