

(様式4)

## 学位論文の内容の要旨

(氏名) 多田 紘恵 印

(学位論文のタイトル)

Molecular profiling of circulating tumor cells predicts clinical outcome in head and neck squamous cell carcinoma.

(循環癌細胞の遺伝子発現プロファイルは頭頸部扁平上皮癌の予後を予測する)

(学位論文の要旨)

末梢血循環癌細胞 (circulating tumor cells: CTCs) は、腫瘍組織から末梢血中に漏出した癌細胞で、従来の観血的Biopsyより非侵襲的に施行できると期待されているリキッドバイオプシーのバイオマーカー候補として注目されている。今回、頭頸部扁平上皮癌と診断された44名の患者から治療前に末梢血7.5mlを採血し、Cell Sieve社のmicrofilterで低圧濾過し、CTCsを分離、RNAを抽出したのちRT-qPCR法を用いて、上皮系マーカー (*EPCAM*, *MET*, *KRT19*, *EGFR*) の発現によるCTCsの同定と、予後との関連について検討を行った。さらにCTCsが陽性であった場合、同様にRT-qPCR法を用い cell growth関連遺伝子 (*PIK3CA*, *CCND1*)、EMT関連遺伝子 (*SNAIL*, *VIM*)、cancer stemness関連遺伝子 (*CD44*, *NANOG*, *ALDH1A1*)、immune regulation関連遺伝子 (*CD47*, *CD274*, *PDCD1LG2*) の発現を解析し、臨床因子との関連について検討を行った。

44名中28名 (63.6%) で少なくとも1つ以上の上皮系マーカーの発現が認められ、頭頸部癌においてもCTCsが同定できた。各上皮系マーカーについては、44名中*EPCAM* 陽性患者が6名 (13.6%)、*MET* 陽性患者が12名 (27.3%)、*KRT19* 陽性患者が21名 (47.7%)、*EGFR* 陽性患者が7名 (15.9%) であった。4つの上皮系マーカーすべてが陽性であったのは44名中3名 (6.8%) であった。

CTCsが陽性であった患者は初期治療に抵抗性であり ( $p=0.0363$ )、局所再発しやすく ( $p=0.0151$ )、遠隔転移も多い傾向があった ( $p=0.0891$ )。無病増悪期間 (PFS)、全生存期間 (OS) に関してはCTCs陽性患者において有意に無病増悪期間が短かった ( $p=0.0107$ )。特に*MET* 陽性CTCsを有する患者は、有意に短い無増悪生存期間であったことから ( $p=0.0426$ )、頭頸部癌においては*MET* 陽性CTCsが予後不良因子になることが示唆された。

CTCsにおける各癌関連遺伝子の発現には各患者間でのheterogeneityを認めた。各癌関連遺伝子の発現と予後について検討すると、*CD274* 陽性CTCsを有する患者は、*CD274* 陰性CTCsを有する患者より、有意にPFSとOSが長かった (PFS,  $p=0.0346$ ; OS,  $p=0.0378$ )。頭頸部扁平上皮癌患者のCTCsにおける*CD274* (PD-L1) 発現は予後良好因子であり、CTCsが原発巣のtumor immune microenvironmentを反映している可能性が示唆された。つまり、CTCs上のPD-L1の発現は、腫瘍組織における免疫細胞の浸潤とPD-L1の過剰発現を部分的に反映している可能性が考えられた。また*CD274*, *PDCD1LG2* を除く8遺伝子発現を基にk-meansクラスタリング法を用いて高発現群、低発現群の2群に分けて臨床因子との関係を解析した。PFSやOSには有意差を認めなかったが (PFS,  $p=0.3327$ ; OS,  $p=0.9802$ )、進行病期 (stage III-IV) では遺伝子高発現群が有意に多かった ( $p=0.0228$ )。

以上のことから、頭頸部扁平上皮癌においてCTCsの存在は予後不良因子であり、CTCsの遺伝子発現プロファイルは、いくつかの臨床因子と関連することが示唆された。CTCsの同定とともに、CTCsの遺伝子発現プロファイルは、頭頸部扁平上皮癌においても、癌の個別化治療、治療効果判定、予後予測に活用できる可能性があり、precision medicineの実現を目指す1つの手段となり得ると考えられた。