

## 論文の内容の要旨

論文題目 AFP 産生胃癌の治療標的探索と腫瘍免疫回避機構

氏名 深澤 京

### 背景と目的

胎児性蛋白の一種である  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) 産生を特徴とする AFP 産生胃癌は胃癌全体の 2.7-5.4% を占め、高悪性度胃癌として知られている。AFP 産生胃癌は遺伝子発現や組織形態の点で胎児型形質を示すことが知られ、組織学的には胎児消化管上皮類似癌、肝臓腺癌、卵黄嚢癌といった特徴的な組織型を示す。AFP 産生胃癌は *TP53* 変異頻度が高く、*HER2* 増幅率が比較的多いこと以外には、遺伝子異常の特徴は知られておらず、有効な治療法は未だ確立されていない。本研究では、高悪性度胃癌の代表である AFP 産生胃癌の分子異常を明らかにし、さらに個別化医療の推進を目指すため、この癌に特徴的な分子異常や治療標的分子を探索し、多数の臨床検体を用いて検証を行った。

2000 年から 2015 年の間に東京大学医学部附属病院で切除された胃癌症例のうち AFP 産生胃癌 45 例を対象とした。対照群として、EBV 関連胃癌 44 例、MSI 胃癌 57 例、これらを除いた diffuse-type 胃癌 45 例、intestinal-type 胃癌 54 例の合計 200 例を用いた。

### AFP 産生胃癌と腫瘍免疫回避機構

癌治療の中でも腫瘍免疫回避機構に着目した免疫療法が特に注目を集めており、胃癌においても抗 PD-1 抗体薬が保険診療で使用されている。抗 PD-1 抗体薬は MSI 胃癌や EBV 関連胃癌で効果が高いことが知られているが、AFP 産生胃癌の腫瘍免疫回避機構についてはほとんど検討されていない。本研究では、代表的な免疫回避機構である PD-L1 発現と human leukocyte antigen class I (HLA class I) 欠損に加え、human leukocyte antigen G (HLA-G) に着目して検討を行った。HLA-G は、非古典的 MHC クラス I タンパク質の一つで、正常組織では胎盤で発現し、胎児の母体からの免疫寛容に関わっている。近年様々な腫瘍で HLA-G の発現が免疫回避機構の重要な要素であることが報告されている。HLA-G は胎児期の胎盤と腫瘍において発現する癌胎児蛋白としてふるまうため、胎児型形質を有する AFP 産生胃癌で高発現している可能性があるとして仮説を立てて検討対象とした。

免疫染色で HLA-G の発現を検討した結果、AFP 産生胃癌の 76% に HLA-G 高発現がみられた。一方、対照群全体での HLA-G 高発現率は 15% であり、AFP 産生胃癌が有意に高頻度であった。HLA-G 高発現は男性に多く、進行癌、リンパ管侵襲および静脈侵襲、リンパ節転移とも有意な相関を示した。また、HLA-G 高発現は胃癌の全生存期間において有意に予後不良であったが、AFP 産生胃癌に限っては予後に有意な差はみられなかった。

HLA-Gに加え、HLA classI 発現低下および PD-L1 発現に関しても検討を行ったところ、HLA classI 発現低下は AFP 産生胃癌症例の 76%にみられ、他のいずれの対照群と比較しても有意に高頻度であった。さらに、EBV 関連胃癌群と MSI 胃癌群では既報と同様に PD-L1 発現が高頻度であったが、AFP 産生胃癌群でもこの 2 群に次いで高い頻度で PD-L1 発現がみられた。AFP 産生胃癌における HLA classI 発現低下や PD-L1 発現の検討はこれまでに報告がなく、本研究が初めてである。

AFP 産生胃癌では、PD-L1 発現の頻度が比較的高いことが示され、抗 PD-1/PD-L1 療法の効果が期待される一方で、HLA classI 発現低下も高頻度に認められることから、少なからず不応・耐性例が存在することも懸念され、実際の効果については今後の検討が必要である。

本研究で新たに、HLA-G は AFP 産生胃癌において特異的に認められることが明らかとなり、幼若な細胞形質への転化が HLA-G 発現と関連していることが示唆された。また AFP 産生胃癌では、HLA classI 発現低下や PD-L1 発現も高頻度に見られたことから、様々な免疫回避戦略を駆使していることが窺われ、AFP 産生胃癌の腫瘍免疫回避機構の詳細なメカニズムの解明と治療薬の開発が待たれる。

### AFP 産生胃癌と FGFR3

線維芽細胞増殖因子 (Fibroblast growth factor ; FGF) とその受容体である線維芽細胞増殖因子受容体 (Fibroblast growth factor receptor ; FGFR) は、細胞増殖や生存、遊走、分化などに関与し、初期胚の発生から様々な臓器の発達に至るまで重要な役割を担う。様々な癌においても FGFR が遺伝子増幅や染色体転座、変異などのメカニズムによって過剰に活性化され、癌の発生や進展に寄与することが明らかとなっている。胃癌では *FGFR2* 遺伝子の増幅が 5-10%程度に認められるが、その他の FGFR ファミリーに関しての検討は少ない。所属する研究グループによる胃癌症例の RNA sequencing 解析から、AFP 産生胃癌に高発現する遺伝子群のうち、治療標的分子として *FGFR3* が抽出された。本研究では AFP 産生胃癌における *FGFR3* の発現を解析し、その意義や治療標的分子としての可能性について検討を行った。

*FGFR3* の免疫染色では、AFP 産生胃癌の 24%に *FGFR3* 高発現が認められ、すべての対照群 (0-4%) と比較して有意に高い頻度であった。臨床病理学的因子の解析では、胃癌の *FGFR3* 高発現症例で、静脈侵襲、リンパ節転移が有意に高頻度に認められたが、胃癌、特に AFP 産生胃癌においては、*FGFR3* 高発現が予後に有意な影響を与えるものではなかった。また、*FGFR3* 高発現の機序として遺伝子増幅の可能性を第一に考え FISH 解析を行ったが、高発現例においても *FGFR3* 遺伝子増幅はみられなかった。

HER2 テストでは、AFP 産生胃癌の 60%が HER2 陽性を示し、既報と同様に高い頻度を示した。*FGFR3* 高発現症例では有意に HER2 陽性症例が多いことが特徴であった。

胃癌細胞株に対する FGFR 阻害薬や siRNA による *FGFR3* 発現抑制実験においては、

FGFR 阻害薬投与で一部の AFP 産生胃癌細胞株に細胞占有面積率の有意な減少が認められたものの、siRNA による *FGFR3* ノックダウンでは、対照群と比較して細胞占有面積率に有意な差はみられず、FGFR3 の増殖能における影響は限定的であることが示唆された。

本研究で、AFP 産生胃癌では HER2 陽性例が多いとともに FGFR3 の発現が高いことが明らかになった。FGFR3 は他の胎児型形質マーカー遺伝子と同様に、AFP 産生胃癌の胎児型形質への転化を反映した特異的な分子であることが示唆された。

### 結語

AFP 産生胃癌では HLA classI 発現低下や PD-L1 発現に加え、HLA-G 高発現が高頻度に認められた。また、HER2 と共に、FGFR3 が AFP 産生胃癌に特徴的な高発現分子であることが明らかとなった。AFP 産生胃癌において幼若な細胞形質への転化が HLA-G 発現や FGFR3 発現と関連していることが示唆された。