

審査の結果の要旨

氏名 酒谷俊雄

本研究は癌細胞の生存戦略に大きな役割を果たしていると考えられる小胞体ストレス関連遺伝子の発現と臨床的経過との関係を東京大学医学部附属病院における手術検体を用いて検討をしたものであり、下記の結果を得ている。

1. 小胞体ストレス関連遺伝子について、Affymetrix GeneChipR Human Genome U133 Plus 2.0 Arrayを用いて解析を行ったところ、GSE10245の肺腺癌40症例において高発現かつ正常肺30症例においては低発現であり、加えてOncomineにおいて生存率と発現量に有意な相関がみられた遺伝子として小胞体内の酸化還元酵素であるERO1Lが挙げられた。上記に加えて、小胞体膜におけるセンサータンパク質であるPERK, ATF6, IRE1の計4遺伝子の発現と臨床経過について検討を行った。
2. 小胞体ストレス関連遺伝子の発現量は、GAPDHをサンプル間のcDNA量の変動を補正するための内在性コントロールとして用いて、リアルタイム逆転写PCRによって定量を行った。得られた小胞体ストレス関連遺伝子の $\Delta Ct$ 値を中央値で2群にわけて、高発現群・低発現群と定義して検討を行ったところ、4遺伝子すべてにおいて、高発現群では、低発現群と比べ病理病期が早期で、血管侵襲も少ない傾向が示された。また、4つの小胞体ストレス関連遺伝子間の発現の相関を検討した結果、すべての小胞体ストレス関連遺伝子の間で正の相関関係が認められ、特にPERKとIRE1との間に強い相関が認められた ( $r=0.899, P<0.001$ )。
3. 病理病期ごとの小胞体ストレス関連遺伝子の発現を検討では、病理病期が進むごとに発現が下がることが示された。各々の遺伝子の病期ごとの発現量は正規分布に従わないデータ分布であったため、ノンパラメトリック手法であるKruskal-Wallis検定によって病期間の発現量を評価した。その結果、異なる病理病期群の間の中央値において明らかな有意差が認められた (ERO1L,  $P=0.002$ ; PERK,  $P<0.001$ ; ATF6,  $P=0.001$ ; IRE1,  $P<0.001$ )。
4. 無再発生存期間(RFS)の単変量解析では、病理病期 ( $P<0.001$ )、リンパ管侵襲の有無 ( $P<0.001$ )、血管侵襲の有無 ( $P<0.001$ )、PERK発現 ( $P=0.003$ )、ATF6発現 ( $P=0.001$ )、IRE1発現 ( $P<0.001$ ) は統計学的に有意なRFSの予後規定因子であった。RFSに対する多変量解析については、IRE1発現、リンパ管侵襲の有無、血管侵襲の有無、病理病期が独立した予後規定因子であり、ハザード比はそれぞれ2.16倍、0.44倍、0.41倍、0.40倍であった ( $P=0.028, 0.037, 0.031, 0.002$ )。全生存期間(OS)の単変量解析を行ったところ、病理病期 ( $P=0.010$ )、血管侵襲の有無 ( $P=0.004$ )、IRE1発現 ( $P=0.009$ ) は統計学的に有意な予後規定因子であった。OSに対する多変量解析については、血管侵襲の有無が独立した予後規定因子であり、ハザード比は0.09倍であった ( $P=0.022$ )。
5. Kaplan-Meier methodによる解析では、小胞体ストレス関連遺伝子の高発現群と低発現群におけるRFSおよびOSは明らかに有意差が認められた。RFSに関して、PERK (高発現群; 2527

日、低発現群; 1992日,  $P=0.003$ )、ATF6 (高発現群; 2575日, 低発現群; 1951日,  $P=0.001$ )、IRE1 (高発現群; 2720日, 低発現群; 1844日,  $P<0.001$ ) において高発現群で統計学的有意に長かった。OSについても同様で、IRE1において高発現群で統計学的有意に長かった (高発現群; 3185日, 低発現群; 2728日,  $P=0.009$ )。

6. RFS、OSともに統計学的に有意に高発現群で良好な結果が認められたIRE1について、病理病期I期のみで検討したところ、IRE1高発現群の方がRFSは長い傾向にあったものの統計学的な有意差は認められなかった(高発現群; 2918日, 低発現群; 2461日,  $P=0.098$ )。そこでよりよいカットオフ値を導入することで病理病期I期の肺腺癌患者のRFSの予後規定因子としてIRE1発現を利用できないか検証した。ROC曲線から得られたカットオフ値として理想的な左上隅から最も近い点 (ベストポイント) やYouden indexを用いる方法が知られており、それらを用いたところIRE1のカットオフ $\Delta$ Ct値は-5.5および-5.79であった。これらを用いたところ、IRE1 $\Delta$ Ct値-5.5のときで $P=0.010$ 、IRE1 $\Delta$ Ct値-5.79のときで $P=0.002$ と統計学的有意差が認められた。以上よりIRE1発現がRFS予後規定因子として有用な可能性が示された。

以上より、本論文は肺腺癌術後検体において、小胞体ストレス関連遺伝子の発現と臨床病理学的特徴との間の関係を明らかにした。本研究はIRE1遺伝子の発現評価により術後再発リスクを予測し、術後補助化学療法の対象患者や使用薬剤の検討などに応用できる可能性を示したもので、学位の授与に値するものと考えられる。