

# 学位論文審査結果の報告書

氏 名

曾我部 俊介

生 年 月 日

昭和 56 年 10 月 16 日

本 籍 (国籍)

日本

学位の種類

博 士 (医 学)

学位記番号

医 第 1170 号

学位授与の条件  
(博士の学位)

学位規程第5条該当

論 文 題 目

MEK Inhibitor for Gastric Cancer  
with MEK1 Gene Mutations

審 査 委 員

(主 査)

竹山 宜典



(副主査)

市藤 彰彦



(副主査)

工藤 正俊



(副 査)



(副 査)



## 論文内容の要旨

### 【背景】

最近の化学療法の進歩にも関わらず、切除不能進行・再発胃癌患者の予後は依然として不良のままである。epidermal growth factor receptor (EGFR) type2 (HER2) の過剰発現を有する胃癌に対するトラスツズマブのように治療薬が有効と予測される患者の層別化や、KRAS 変異型大腸癌に対して抗 EGFR 抗体の効果が期待できないとされるような効果を予測するバイオマーカーの同定が切除不能進行・再発胃癌においても必要とされている。

### 【目的】

進行・再発胃癌における分子標的治療の治療効果を予測するバイオマーカーの検索。

### 【方法】

8種類の胃癌細胞株に分子標的治療薬を投与し薬剤感受性を測定。また胃癌細胞株の遺伝子変異を解析し、遺伝子変異の有無と分子標的薬の薬剤感受性の相関を検索。確認された遺伝子変異の腫瘍原性を 3 T 3 focus formation assay で確認。またウイルスベクターを作製し、遺伝子変異を入れ腫瘍原性 (MAPK 経路の活性化)・分子標的治療薬の薬剤感受性を検討。次に SCID (重度複合免疫不全) マウスに遺伝子変異を移植し、分子標的治療薬の抗腫瘍効果を測定。最後に進行胃癌患者の摘出標本の臨床腫瘍検体を用いて遺伝子変異の頻度を検討した。

### 【結果】

3種類の胃癌細胞株で、MAPK 経路を構成するものの1つの MEK 1 を選択的に阻害する MEK 1 阻害薬 (GSK1120212 および PD0325901) の著効を認めた。胃癌細胞株における KRAS・BRAF・MEK 1 についての遺伝子解析の結果、MEK 1 阻害薬の著効を認めた胃癌細胞株の1つに既報のない MEK 1 遺伝子変異 (MEK1 S72G) を認めた。MEK 1 阻害薬の著効を認めたその他の2つの細胞株では既知の遺伝子変異 (KRAS G12V および MEK1 Q56P) を認めた。上記の3つの遺伝子変異について 3 T 3 focus formation assay でいずれも腫瘍原性を確認できた。MEK1 遺伝子変異を有する細胞株において MEK1 阻害薬は ERK 1/2 のリン酸化の抑制 (MAPK 経路の活性化の抑制) およびアポトーシスの誘導を認めた。異種移植片研究においても MEK1 遺伝子変異 (MEK1 S72G) を移植した SCID マウスで MEK 1 阻害薬投与による著明な腫瘍縮小効果を認めた。また 46 の進行胃癌患者の摘出標本の臨床腫瘍検体について MEK1 遺伝子解析を行い、1つの低分化型管状腺癌患者の臨床検体に MEK1 遺伝子変異を認めた。

### 【結論】

今回、胃癌細胞株で既報のない MEK 1 遺伝子変異 (MEK1 S72G) を見付け、その MEK 1 遺伝子変異 (MEK1 S72G) の腫瘍原性および、MEK1 阻害薬による抗腫瘍効果を証明した。以上の研究より、MEK 1 遺伝子変異を有する胃癌患者は、MEK1 阻害薬を用いた分子標的治療の良い対象となり得る可能性が示唆された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2014年 9 月 24 日 公 表	出版物名
	公 表 内 容	Molecular Cancer Therapeutics doi : 10. 1158/1535-7163. MCT-14-0429
	全 文	2014 年 9 月 24 日 online 掲載

## 論文審査結果の要旨

最近の化学療法の進歩にもかかわらず、切除不能進行・再発胃癌の予後は依然として不良であるが、その治療成績の向上には、肺癌などの他の腫瘍で治療成績向上に貢献している分子標的薬の導入が必須と考えられる。そこで本研究では、胃癌における分子標的治療の効果を予測するバイオマーカーの検索を目的とした。

### 方法：

8種類の胃癌細胞株にMEK阻害薬を添加し薬剤感受性を測定した。そして高感受性を呈した胃癌細胞株の遺伝子解析により見いだされた遺伝子変異についてswiss 3T3細胞を用いた focus formation assayと tumorigenicity assayを行った。MEK1遺伝子変異を持つ細胞株でMEK1阻害薬によるERK 1/2のリン酸化の抑制（MAPK経路の活性化の抑制）およびアポトーシスの誘導を解析した。また、これらの遺伝子変異を導入したswiss 3T3細胞をSCIDマウスに移植しMEK阻害薬の感受性を検討した。そして、進行胃癌46症例の摘出標本における腫瘍部分のMEK1遺伝子解析を施行した。

### 結果：

8種類の胃癌細胞株のうち、HSC44、OCUM1、OkajimaがMEK 1 阻害薬に対して高い感受性を示した。いずれもスキルスタイプの細胞株でHSC44にはKrasの遺伝子変異、OCUM1にはMEK1の遺伝子変異が報告されていたが、今回Okajimaで未知のMEK1の遺伝子変異(MEK1 S72G)を見出した。既知のMEK1 Q56P・新規のMEK1 S72Gともに3T3 focus formation assay・tumorigenicity assayで腫瘍原性を確認した。OCUM-1、Okajimaの細胞株でMEK1阻害薬によるERK 1/2のリン酸化の抑制（MAPK経路の活性化の抑制）およびアポトーシスの誘導を確認した。また異種移植片実験においてもMEK1遺伝子変異(MEK1 S72G)を導入した線維芽細胞を移植したSCIDマウスでMEK 1 阻害薬投与による著明な腫瘍縮小効果を確認した。最後に進行胃癌46症例のうち、1例の低分化型管状腺癌の臨床検体にMEK1遺伝子変異(Q56P)を認めた。

### 考察：

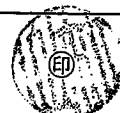
今回、胃癌細胞株で未知のMEK 1 遺伝子変異(MEK1 S72G)を見出し、その変異の腫瘍原性および、MEK1阻害薬による抗腫瘍効果を証明した。これらの知見は、このMEK 1 遺伝子変異を有する胃癌患者が、MEK1阻害薬を用いた分子標的治療の良い対象となり得る可能性があると考えた。学位申請者は本研究を中心となって遂行しており、本研究分野に関する理解と造詣も十分で、最終試験では合格と判定した。本研究は、切除不能進行・再発胃癌に対する新しい分子標的薬治療の戦略開発における極めて有用な情報となる成果であり、本論文は医学博士の学位に値する論文と判定した。

# 博士学位論文最終試験結果の報告書

平成 27 年 2 月 10 日

## 審査委員

主 査 竹山 宜典



副主査 伊藤 彰彦



副主査 工藤 正俊



副 査



## 学位申請者氏名

曾我部 俊介

## 論文題目

MEK Inhibitor for Gastric Cancer with MEK1 Gene Mutations

## 要 旨

学位申請者は公聴会において、今回の学位申請研究に関して以下のような報告を行った。すなわち、胃癌における分子標的治療の効果を予測するバイオマーカーの検索を目的として、MEK阻害薬の高い感受性を示す3種類の胃癌細胞株について遺伝子解析を行い、1つの細胞株に未知のMEK1遺伝子変異(MEK1 S72G)を認めた。本研究ではMEK1 S72Gの腫瘍原性をin vitro・in vivoで証明し、MEK1阻害薬によるMAPK経路の活性化の抑制 およびアポトーシス誘導を確認した。また、異種移植片実験として、この遺伝子変異を導入した繊維芽細胞を移植したSCIDマウスでMEK1阻害薬投与による著明な腫瘍縮小効果を確認した。また進行胃癌46症例の摘出標本の腫瘍のMEK1遺伝子解析を行い、1例の低分化型管状腺癌の臨床検体にこのMEK1遺伝子変異を認め、MEK1遺伝子変異を有する胃癌患者に対する、MEK1阻害薬を用いた分子標的治療の可能性を示した。報告後、伊藤副主査より(1)スキルス胃癌由来の細胞株のスキルスの診断について、(2)MEK1 Q56PおよびS72Gのドメインの相違について、(3)MEK阻害薬の作用機序・副作用について、(4)フローサイトメトリーにおけるアポトーシス細胞の検出方法について、(5)臨床検体の組織型が低悪性度のものが多い理由について、(6)MEK1遺伝子変異を認めた症例の摘出標本の組織型について、工藤副主査より(7)MEK阻害薬に注目した理由について、(8)本実験で見いだされたもう一つの遺伝子変異であるMEK1 Q56Pについて異種移植片実験を行ったか、また既報があるかについて、(9)MEK1 Q56P・MEK1 S72Gの遺伝子変異はホモかヘテロかについて、(10)MEK1遺伝子変異がdriver mutationとなっているかについて、(11)H. pylori感染との関連について、(12)MEK阻害薬の臨床応用について、光富教授より(13)データベースでのMEK1 mutationの頻度について等の質問があった。これらの質問に対して学位申請者は適切な解答を行ったので、学位論文が学位申請者の研究成果であることを確認し、最終試験に合格と判断した。