

学位論文審査結果の報告書

氏 名 野長瀬祥兼

生年月日 昭和 53年 6月 15日

本籍(国籍) 和歌山

学位の種類 博 士 (医 学)

学位記番号 医 第 1219 号

学位授与の条件 学位規程第5条該当
(博士の学位)

論文題目 Heregulin-expressing HER2-positive breast
and gastric cancer exhibited heterogeneous susceptibility
to the anti-HER2 agents lapatinib, trastuzumab and T-DM1.

(ヘレグリン発現HER2陽性乳癌・胃癌における抗HER2薬ラパチニ
ブ、トラツズマブ、T-DM1の感受性に関する研究)

審査委員

(主 査)

西尾和人



(副主査)

宇田卓司



(副主査)

菰池 信史



(副 査)



(副 査)



学位論文受理日 平成 28年 11月 8日

学位論文審査終了日 平成 29年 2月 2日

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

抗 HER2 薬は HER2 陽性乳癌・胃癌において臨床的有用性が証明されている。HER3 のリガンドであるヘレグリンは HER2-HER3 ヘテロダイマー形成を促進することにより、ラパチニブ、トラスツズマブの感受性を下げることが知られている。本研究は、トラスツズマブと DM1 の抗体薬物複合体 (ADC) である T-DM1 の薬理的効果に対するヘレグリンの影響を明らかにする。

【方法】

HER2 陽性細胞株 SK-BR-3、NCI-N87、MDA-MB-453、HCC1954、SNU-216、4-IST にリコンビナントヘレグリンを添加、あるいはヘレグリン遺伝子導入を行い、薬剤感受性の影響を評価した。また、乳癌・胃癌患者のトラスツズマブ耐性前後の臨床検体を用いて、ヘレグリン mRNA 発現量を RT-PCR 法で評価した。

【結果】

ヘレグリンは HER3-Akt 経路を活性化し survivin 発現を促進させることでラパチニブ、トラスツズマブに対する抵抗性を引き起こした。一方で T-DM1 に対しては、わずかな抵抗性を引き起こしたのみであった。乳癌・胃癌患者 10 人中 1 人のトラスツズマブ耐性後の検体において、ヘレグリン mRNA の増加が認められた。

【考察】

トラスツズマブ耐性後の臨床検体においてヘレグリン mRNA 発現増加している症例を確認し、トラスツズマブ耐性化にヘレグリンが関与している可能性が臨床的にも示された。さらに、ヘレグリンを過剰発現させた HER2 陽性癌に対する T-DM1 の感受性の変化は *in vitro*、*in vivo* ではほとんど変化が見られず、T-DM1 はヘレグリン過剰発現 HER2 陽性癌に対しても有効である可能性が示唆された。

【結論】

ヘレグリン過剰発現は、トラスツズマブに対する HER2 陽性癌の耐性化に関与している可能性がある。HER2 陽性癌に対する T-DM1 の感受性は、ヘレグリン過剰発現によってほとんど影響を受けない。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2016 年 10 月 19 日 公 表	博士学位論文 Oncotarget
	Heregulin-expressing HER2-positive breast and gastric cancer exhibited heterogeneous susceptibility to the anti-HER2 agents lapatinib, trastuzumab and T-DM1	
	全 文	2016 年 10 月 19 日 掲 載

論文審査結果の要旨

1) 論文内容の要旨

【目的】：

抗HER2薬はHER2陽性乳癌・胃癌において臨床的有用性が証明されている。HER3のリガンドであるヘレグリンはHER2-HER3ヘテロダイマー形成を促進することにより、ラパチニブ、トラスツズマブの感受性を下げるという報告があるが、ヘレグリンの抗HER2薬への影響は十分には明らかにされていない。本研究は、トラスツズマブとDM1の抗体薬物複合体(ADC)であるT-DM1を含む抗HER2薬の薬理学的効果に対するヘレグリンの影響を明らかにする。

【方法】：

HER2陽性細胞株SK-BR-3、NCI-N87、MDA-MB-453、HCC1954、SNU-216、4-1STにリコンビナントヘレグリンを添加、あるいはヘレグリン遺伝子導入を行い、薬剤感受性の影響を評価した。また、乳癌・胃癌患者のトラスツズマブ使用前後の腫瘍組織のFFPE検体を用いて、ヘレグリンmRNR発現量をRT-PCR法で評価した。

【結果】：

ヘレグリンはラパチニブ、トラスツズマブのHER2陽性乳癌・胃癌細胞株に対する薬剤感受性を低下させた。一方でT-DM1に対しては、薬剤感受性に影響を与えなかった。乳癌・胃癌患者10人中1人のトラスツズマブ耐性後の検体において、ヘレグリンmRNAの30倍以上の増加が認められた。

【考察】：

トラスツズマブ耐性後の臨床検体においてヘレグリンmRNA発現増加している症例を確認し、トラスツズマブ耐性化にヘレグリンが関与している可能性が臨床的に示された。さらに、ヘレグリンを過剰発現させたHER2陽性癌に対するT-DM1の感受性の変化はin vitro、in vivoでは変化が見られず、T-DM1はヘレグリン過剰発現HER2陽性癌に対しても有効である可能性が示唆された。

【結論】

ヘレグリン過剰発現は、HER2陽性癌のトラスツズマブに対する耐性化に関与している可能性がある。HER2陽性癌に対するラパチニブ、トラスツズマブの薬剤感受性はヘレグリンにより低下するが、T-DM1の薬剤感受性はヘレグリンによって影響を受けない。

本論文は、HER2陽性乳癌、胃癌細胞株がヘレグリン過剰発現によりラパチニブ、トラスツズマブに耐性となるが、抗体薬物複合体であるT-DM1の感受性はヘレグリンによる影響を受けないことを論じている。また臨床検体において、トラスツズマブ使用前に比較して使用後にヘレグリン mRNA量が増加している症例も示している。これまでに、ヘレグリンはHER3を介した細胞内下流シグナルの活性化によりEGFR-TKIや抗EGFR抗体の感受性を低下させることが示されていたが、抗HER2薬に対する影響をT-DM1を含めて論じられた報告は極めて少なく、さらに臨床検体を用いてトラスツズマブ耐性前後でヘレグリンのmRNA量の増加を示した初めての論文である。複数の抗HER2薬へのヘレグリンの影響を、多数のHER2陽性癌細胞株について評価されており、加えてヘレグリン遺伝子導入株を用いたin vitro、in vivoの実験も示されており、preclinicalな実験として必要十分な結果が示されたoriginalityの高い研究論文と思われる。

2) 審査結果の要旨

本論文に対する最終試験は、平成29年1月11日の17時から第7講義室で実施された。

社会人大学院生である著者が臨床ばかりでなく、日常診療で問題となる薬物耐性について基礎的な実験を行い、また実臨床との関連を裏付けるため、臨床検体を用いた解析も行っており、がん患者の治療成績向上への願いがあって成し遂げられた成果と考えられる。

最終試験では著者から本研究を行うに至った背景、実験方法、結果と考察が発表され、それに対して主査、副主査がいくつかの疑問点を質した。

論文審査結果の要旨

安田卓司教授からは、実験に使用した細胞株の遺伝的背景、ヘレグリンの生体内濃度と実験で用いた濃度の妥当性、ヘレグリンによるラパチニブ耐性機序、動物実験でトラスズマブ群での耐性の程度が低いことの原因、などを問うた。菰池佳史教授からも、臨床検体でヘレグリンが増加している症例の臨床経過の詳細、ヘレグリンの耐性機序が抗HE2薬に占める割合、臨床でのヘレグリン測定方法、などが質問された。

これらの質問に対し著者は、論文には記載されなかった実験内容、結果や臨床試験との関連にも言及しながら、極めて的確に応答した。

したがって、副主査と合議の上、提出された学位論文が確かに野長瀬祥兼氏の研究成果であること、また学位授与にふさわしい基礎的実験、薬物療法の知識を合わせて持つものと判断し最終試験を合格と判定した。

3) 最終試験の結果：

合格

4) 学位授与の可否：

可

博士学位論文最終試験結果の報告書

平成 29 年 1 月 18 日

審査委員	主査	西尾 和人	
	副主査	安田 卓司	
	副主査	菰池 佳史	
	副査		
学位申請者氏名	野長瀬祥兼		
論文題目	<p>Heregulin-expressing HER2-positive breast and gastric cancer exhibited heterogeneous susceptibility to the anti-HER2 agents lapatinib, rastuzumab and T-DM1. (ヘレグリン発現HER2陽性乳癌・胃癌における抗HER2薬ラパチニブ、トラスツマブ、T-DM1の感受性に関する研究)</p>		

要旨

野長瀬祥兼氏の博士学位論文に対する最終試験は、平成29年1月11日の17時から第7講義室で実施された。

まず、野長瀬祥兼氏が本研究を行うに至った背景、実験方法、結果と考察が発表され、それに対して主査である西尾、副主査である安田卓司、菰池佳史両教授がいくつかの疑問点を質した。

安田卓司教授からは、実験に使用した細胞株の遺伝的背景、ヘレグリンの生体内濃度と実験で用いた濃度の妥当性、ヘレグリンによるラパチニブ耐性機序、動物実験でトラスツマブ群での耐性の程度が低いことの原因、などを問うた。菰池佳史教授からも、臨床検体でヘレグリンが増加している症例の臨床経過の詳細、ヘレグリンの耐性機序が抗HER2薬に占める割合、臨床でのヘレグリン測定方法、などが質問された。

これらの質問に対し著者は、論文には記載されなかった実験内容、結果や臨床試験との関連にも言及しながら、極めて的確に応答した。

したがって、副主査と合議の上、提出された学位論文が確かに野長瀬祥兼氏の研究成果であること、また学位授与にふさわしい基礎実験、薬物療法の知識を合わせて持つものと判断し最終試験を合格と判定した。