

文部科学省『多様な新ニーズに対応する「がん専門医療人材(がんプロフェッショナル)」養成プラン』採択事業
新ニーズに対応する九州がんプロ養成プラン

令和3年度 教育研究成果発表会 実施報告書

2021. **12/13** 月



令和3年度 教育研究成果発表会 実施報告書 目次

タイトル	ページ
1. ご挨拶	1
2. 開催概要	2
3. 参加者一覧	3
4. 履修生による研究発表の内容	5
発表 1 「定位放射線治療後の非小細胞肺癌における腫瘍細胞数時間変化予測モデルの開発」	5
発表 2 「初回手術で腫瘍残存が予測される子宮頸癌症例に対して術前化学療法を施行した臨床効果の比較」	7
発表 3 「がん遺伝子パネル検査で判明した <i>ERBB2</i> の VUS に対する WET と DRY の統合的機能解析」	9
発表 4 「胃がんにおける <i>ERCC1</i> の主要なアイソフォームを検出する新たな抗 <i>ERCC1</i> モノクローナル抗体の作製」	11
発表 5 「胃癌における PD-L1 (Programmed death ligand-1) の spatial, temporal heterogeneity の解析」	14
発表 6 「癌腹膜播種に対する近赤外蛍光蛋白発現組換えレオウイルスを用いた新規診断・治療法の開発」	17
5. 講評	19
6. 研究奨励賞受賞者	20

1. ご挨拶

九州大学大学院医学研究院 連携社会医学分野 馬場 英司 教授
(九州大学コーディネーター、北部エリア部会長、幹事コーディネーター)

平成29年度にスタートした文部科学省『多様な新ニーズに対応する「がん専門医療人材(がんプロフェッショナル)」養成プラン』では、がんゲノム医療、希少がん・難治がんへの対策に加え、小児・AYA世代および高齢者のがんを含む患者のライフステージへの対応など、国の第3期がん対策推進基本計画の課題を解決できる医療従事者や研究者の養成を目指しています。

「新ニーズに対応する九州がんプロ養成プラン」では、九州・沖縄の10大学が連携して、がん医療の現場で生じる様々なニーズに応え得るがん専門医療人材の育成に取り組んできました。その一環として、各大学ではがんプロ履修生がこれらのニーズに関連する課題についての基礎・臨床研究を行っており、多くの成果を上げてきています。

昨年度に続いてオンライン開催いたしました「教育研究成果発表会」では、九州がんプロ養成プランに参画する全10大学より多職種のがんプロ履修生や教員に多数ご参加頂き、6大学より6名のがんプロ履修生および修了生による教育・研究成果の発表を行いました。研究奨励賞を受賞された3名を含め、いずれも新規性と創造性に満ちた素晴らしい研究内容であり、九州がんプロ養成プランの教育・研究成果を実感する事ができました。また他大学の教育・研究への取組みの様子を知る機会となり、今後のより良いがんプロ事業の推進に資するものと思います。

運営にご尽力を頂きました九州・沖縄の各大学の教員、事務担当の皆様にご心より御礼を申し上げます。



2. 開催概要

【日時】令和 3(2021)年 12月13 日(月)17:00~19:15

【会場】九州大学馬出キャンパス会場および Web(Zoom meeting)のハイブリッド開催

【プログラム】

(司会)九州大学大学院医学研究院 九州連携臨床腫瘍学講座 助教 大田 恵一

17:00-17:05 開会挨拶(九州大学大学院医学研究院 連携社会医学分野 教授 馬場 英司)

17:05-18:45 がんプロ履修生による研究発表

時間	内容
17:05	1. 「定位放射線治療後の非小細胞肺癌における腫瘍細胞数時間変化予測モデルの開発」 座長:九州大学大学院医学研究院 保健学部門 教授 有村 秀孝 演者:九州大学 江頭 舞(先端医用量子線技術科学コース 1年)
17:20	2. 「初回手術で腫瘍残存が予測される子宮頸癌に対して術前化学療法を施行した臨床効果の比較」 座長:福岡大学 医学部 腫瘍・血液・感染症内科学 教授 高松 泰 演者:福岡大学 石田 倭子(ライフステージに応じたがん専門医療人育成コース 1年)
17:35	3. 「がん遺伝子パネル検査で判明した <i>ERBB2</i> のVUSに対するWETとDRYの統合的機能解析」 座長:佐賀大学 医学域医学系 内科学講座 准教授 安藤 寿彦 演者:佐賀大学 原田 陽平(統合的地域がん治療専門医育成コース 4年)
17:50	4. 「胃癌における <i>ERCC1</i> の主要なアイソフォームを検出する新たな抗 <i>ERCC1</i> モノクローナル抗体の作製」 座長:長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 臨床腫瘍学分野 教授 芦澤 和人 演者:長崎大学 大石 敬之(がん専門医師・歯科医師養成コース 4年)
	休憩(18:05~18:15)
18:15	5. 「胃癌における PD-L1(Programmed death ligand-1)の spatial, temporal heterogeneity の解析」 座長:熊本大学病院 次世代外科治療開発学寄付講座 特任准教授 馬場 祥史 演者:熊本大学 山下 晃平(研修医・大学院一体型がん専門博士養成コース 令和元年度修了) (MD Anderson Cancer Center GI Medical Oncology)
18:30	6. 「癌腹膜播種に対する近赤外蛍光蛋白発現組換えレオウイルスを用いた新規診断・治療法の開発」 座長:大分大学 医学部長/医学部呼吸器・乳腺外科学講座 教授 杉尾 賢二 演者:大分大学 小川 雄大(ゲノム医療研究者養成コース 4年)

18:45-18:55 休憩

18:55-19:10 講評・表彰(鹿児島大学病院 腫瘍センター 教授 上野 真一)

19:10-19:15 閉会挨拶(琉球大学 医学部保健学科 血液免疫検査学分野 教授 福島 卓也)

3. 参加者一覧

No	大学名	氏名	所属	身分
1	九州大学	馬場 英司	医学研究院 連携社会医学分野	教授
2		大戸 茂弘	薬学研究院 臨床薬学部門	教授
3		有村 秀孝	医学研究院 保健学部門	教授
4		渡邊 壽美子	医学研究院 保健学部門	講師
5		大田 恵一	医学研究院 九州連携臨床腫瘍学講座	助教
6		田中 紀代美	医系学部等事務部 学務課	課長補佐
7		武末 光弘	医系学部等事務部 総務課	係長
8		山下 智美	医系学部等事務部 総務課	主任
9		洞ノ上 真貴	医系学部等事務部 総務課	一般職員
10		山本 益三	医学研究院 九州連携臨床腫瘍学講座	技術補佐員
11	福岡大学	高松 泰	医学部 腫瘍・血液・感染症内科学	教授
12		永森しおり	医学部 腫瘍・血液・感染症内科学	教育技術職員
13	久留米大学	赤木 由人	医学部 外科学講座	教授
14	佐賀大学	安藤 寿彦	医学域医学系 内科学講座	准教授
15		中村 秀明	医学部付属病院 輸血部	助教
16	長崎大学	芦澤 和人	大学院医歯薬学総合研究科 臨床腫瘍学	教授
17		益谷 美都子	大学院医歯薬学総合研究科	教授
18		福田 実	長崎大学病院	准教授
19		本田 琢也	長崎大学病院	助教
20	熊本大学	馬場 祥史	熊本大学病院次世代外科治療開発学寄附講座	特任准教授
21	大分大学	杉尾 賢二	医学部 呼吸器・乳腺外科学講座	教授
22		宮脇 美千代	医学部 呼吸器・乳腺外科学講座	講師
23		安部 美幸	医学部 呼吸器・乳腺外科学講座	特任助教
24		中沼 寛明	医学部 消化器・小児外科学講座	医員
25		白坂 美哲	医学部 消化器・小児外科学講座	医員
26		藤永 淳郎	医学部 消化器・小児外科学講座	医員
27		相場 崇行	医学部 消化器・小児外科学講座	医員
28		北川 雅浩	医学部 消化器・小児外科学講座	医員
29	鹿児島大学	上野 真一	鹿児島大学病院 腫瘍センター	特例教授
30		鈴木 紳介	鹿児島大学病院 腫瘍センター	特例講師
31	琉球大学	福島 卓也	医学部 保健学科血液免疫検査学分野	教授
32	産業医科大学	吉野 潔	医学部 産科・婦人科学	教授

No	大学名	氏名	がんプロコース名	学年
33	九州大学	江頭 舞	先端医用量子線技術科学コース	1年
34	福岡大学	石田 倅子	ライフステージに応じたがん専門医療人育成コース	1年
35	佐賀大学	原田 陽平	統合的地域がん治療専門医育成コース	4年
36	長崎大学	大石 敬之	がん専門医師・歯科医師養成コース	4年
37	熊本大学	山下 晃平	研修医・大学院一体型がん専門博士養成コース	令和元年度修了
38	大分大学	小川 雄大	ゲノム医療研究者養成コース	4年

その他(大学院生等):24名

■参加者合計:62名

4. がんプロ履修生による研究発表

発表1 「定位放射線治療後の非小細胞肺癌における腫瘍細胞数時間変化予測モデルの開発」

九州大学(先端医用量子線技術科学コース 1年) 江頭 舞

【目的】

Stage1 の非小細胞性肺癌患者(NSCLC)に対する外科手術と定位放射線治療(SBRT)の5年生存率はほぼ同等で約70%と言われており、治療法選択が重要となる。本研究では数学モデルを用いてSBRTを受けたNSCLC患者の治療効果を予測することを目的とした。

【方法】

NSCLC患者の17症例に関してSBRT治療前後のCT画像における腫瘍の輪郭(GTV: Gross tumor volume)をスライスごとに描出し、等方ボクセル化を行い、体積を求めた。その体積に腫瘍細胞の密度を乗じ各時間における腫瘍細胞数を計算した。その値を腫瘍細胞は放射性抵抗性細胞と放射性感受性細胞、持続性細胞の三種類に分類されるという仮定の下、Gompertzモデルがベースと Bertalanffy-Pütterモデル(BPモデル)がベースの二つの腫瘍成長モデルに当てはめ、モデルパラメータ最適化を行い、CT画像から求めた細胞数と数学モデルから求めた細胞数との相関値と絶対平均誤差率の評価と比較を行った。

【結果と考察】

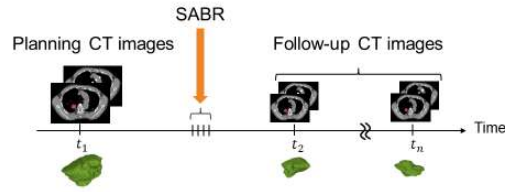
ピアソンの相関係数と絶対平均誤差率の平均値はGompertzモデルがベースの腫瘍成長モデルで0.95と8.21%、BPモデルがベースの腫瘍成長モデルで0.90と7.69%を示した。絶対平均誤差率の結果よりBPモデルをベースとした腫瘍成長モデルのほうがGompertzモデルを基にしたモデルより腫瘍細胞数の経時的変化を詳細に表現できると示された。しかし本研究では放射線肺臓炎とGTVの鑑別が難しい経過観察CT画像が多く輪郭抽出が困難な症例が多く、1人の患者あたりに使用できた体積データが少ない症例が多数あった。また、本研究は17症例しか数学モデルに適用することができなかつたため、多くの症例に当てはめる必要がある。

【結論】

治療前のCT画像から治療効果を予測できる可能性を示した。

Objective

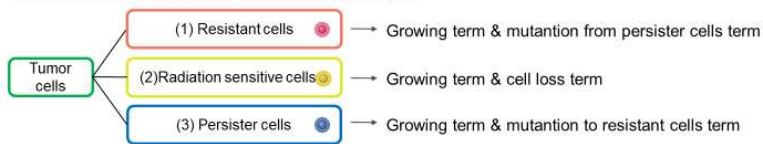
To develop the prediction model of time-variant trajectory of tumor cells in non-small cell lung cancer patients after SABR



1

(3) Predicting number of tumor cells using mathematical models

Our assumption ... Tumor cells could be divided 3 types



Two mathematical models were used for the time-variant trajectory of the number of tumor cell. In each model, **Gompertz model** and **Bertalanffy-Pütter model** were adopted as growing terms in the tumor growth models.

Gompertz model

$$\frac{df(x)}{dx} = \rho f(x) \log\left(\frac{K}{f(x)}\right)$$

ρ : growth rate, K : carrying capacity (maximum value of $f(x)$)

Bertalanffy-Pütter model

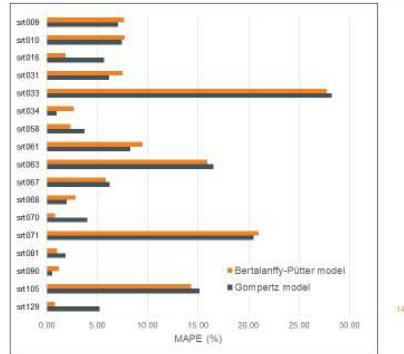
$$\frac{df(x)}{dx} = \rho f(x)^a - q f(x)^b$$

ρ, q : parameters related to growth (coefficient)
 a, b : parameters related to growth (index) *we set $a = b = 1$

2

Result 1. MAPE comparison

Patient ID	Gompertz model	Bertalanffy-Pütter model
srt009	7.05	7.66
srt010	7.45	7.71
srt016	5.66	1.89
srt031	6.20	7.50
srt033	28.23	27.74
srt034	0.97	2.67
srt058	3.75	2.39
srt061	8.29	9.49
srt063	16.51	15.90
srt067	6.24	5.85
srt068	1.97	2.87
srt070	4.03	0.82
srt071	20.52	20.97
srt081	1.87	1.03
srt090	0.52	1.19
srt105	15.13	14.31
srt129	5.24	0.82
Average	8.21	7.69



3

Conclusions

- The time variant trajectory in the number of tumor cells in NSCLC patients after SABR could be approximated by using a mathematical model
- The mathematical model may allow us to predict the suitability of SABR to each patient

4

発表 2 「初回手術で腫瘍残存が予測される子宮頸癌症例に対して術前化学療法を施行した臨床効果の比較」

福岡大学(ライフステージに応じたがん専門医療人養成コース 1年) 石田 倅子

【緒言】

若年の罹患率が増加している子宮頸癌では、初回手術で完全切除が困難な症例では再発率が高く予後不良である。そこで完全切除に難渋するⅠB3期～ⅢC2期(腫瘍径が大きい場合、腔壁や子宮傍組織への浸潤がある場合、リンパ節転移がある場合)では術前化学療法が考慮されている。今回、完全切除が困難と判断して術前化学療法(NAC)を行い、手術を施行した子宮頸癌症例の臨床効果を評価した。

【方法】

2016年1月から2021年7月までに子宮頸癌に対して手術を行った症例を対象とした。診療録より後方視的に検討し、患者背景、NACによる腫瘍径の縮小率、手術時間、出血量、輸血の有無、術後合併症(神経因性膀胱・感染症・イレウス)の有無、手術摘出標本における腫瘍から切除縁までの距離、術後再発リスク分類、progression-free survival (PFS)、overall survival (OS)について比較検討した。腫瘍径の縮小率についてはRECIST分類を用いた。

【結果】

患者背景に差はなかった。NAC施行群は11例(ⅠB3期3例、ⅡB期1例、ⅢA期1例、ⅢB期2例、ⅢC1期4例)、NAC未施行群は12例(ⅠB3期7例、ⅡA2期4例、ⅢC2期1例)であった。NAC施行群の腫瘍径縮小率の中央値は63.1%[範囲:8.3-100%]であり、3例が完全奏効、7例が部分奏効、1例が安定であった。NAC未施行群と比較し、NAC施行群では、手術時間は短く($P=0.33$)、出血量は少なく($P=0.94$)、輸血症例は多い($P=0.07$)傾向にあり、術後合併症については神経因性膀胱の発症が有意に低く($P=0.04$)、術後感染症の発症は未施行群で低い($P=0.26$)傾向にあり、イレウス発症の有無に差はなかった($P=0.74$)。NAC未施行群と比較し、NAC施行群では、切除断端からの距離が2cm以上確保できた症例が有意に増加し($P=0.002$)、術後再発リスク分類において低リスク群の症例が増加した($P=0.001$)。NAC施行群とNAC未施行群でPFS($P=0.89$)とOS($P=0.21$)に差はなかった。

【結論】

子宮頸癌に対するNACは腫瘍径を縮小させ、腫瘍から2cm以上距離をとった手術を行える可能性が高く、術後合併症の頻度を低下させた。腫瘍学的予後については今後も症例を積み重ねる必要がある。

目的

初回手術で完全切除が困難な症例に対して、NAC施行後に手術を施行した子宮頸癌症例の臨床効果を評価した。

図 1

結果③ NAC施行例において化学療法施行前後の腫瘍長径の変化

	NAC前腫瘍長径(mm)	NAC	NAC後腫瘍長径(mm)	縮小率(%)	RECIST分類
Case1	57.0	TP 6コース	0 (消失)	100	CR
Case2	49.5	TP 2コース	28.7	40.6	PR
Case3	72.7	TP 4コース	0 (消失)	100	CR
Case4	64.2	TP 2コース	29.4	54.2	PR
Case5	64.2	TP 2コース	29.4	54.2	PR
Case6	64.2	TP 2コース	29.4	54.2	PR
Case7	64.2	TP 2コース	29.4	54.2	SD
Case8	72.7	TP 9コース	0 (消失)	100	CR
Case9	60.9	TP 4コース	22.5	63.1	PR
Case10	56.2	TP 2コース	26.8	52.3	PR
Case11	51.1	TP 3コース	14.1	72.4	PR
中央値	58		22.5	63.1	
[範囲]	[131.6-49.5]		[0-69.8]	[8.27-100]	

NAC施行群の腫瘍径縮小率の中央値は63.1%！
3例がCR、7例がPR、1例がSDであった。

CR: 完全奏効, PR: 部分奏効, SD: 安定

図 2

結果⑤ NAC施行群と非NAC群における手術侵襲の評価

非NAC群と比較し、NAC施行群では、手術時間は短く、出血量は少なく、輸血症例は多い傾向にあった。
術後合併症については、NAC施行群では**神経因性膀胱の発症が有意に低く(P=0.04)**、術後感染症は少ない傾向にあり、イレウス発症の有無に差はなかった。

		NAC施行群 (n=11)		非NAC群 (n=12)		P値
術後合併症	術後感染症	3	8	8	4	P=0.04
		有	無	有	無	
		*1	10	*2	10	P=0.26
	イレウス	有	無	有	無	
		1	10	1	11	P=0.74

*術後感染症: 尿路感染症

図 3

結果のまとめ

- 患者背景に差はなかった。
- NAC施行群は11例(ⅠB3期3例、ⅡB期1例、ⅢA期1例、ⅢB期2例、ⅢC1期4例)、非NAC群は12例(ⅠB3期7例、ⅡA2期4例、ⅢC2期1例)であった。
- NAC施行群の腫瘍径縮小率の中央値は63.1%[範囲:8.3-100%]であり、3例がCR、7例がPR、1例がSDであった。
- 非NAC群と比較し、NAC施行群では、切除断端からの距離が2cm以上確保できた症例が有意に増加した(P=0.002)。
- 非NAC群と比較し、NAC施行群では、術後合併症の神経因性膀胱の発症が有意に低かった(P=0.04)。
- 術後再発リスク分類において低リスク群の症例が増加した(P=0.001)。
- NAC施行群と非NAC群でPFS(P=0.89)とOS(P=0.21)に差はなかった。

図 4

発表3 「がん遺伝子パネル検査で判明した*ERBB2* のVUSに対するWETとDRYの 統合的機能解析」

佐賀大学(統合的地域がん治療専門医育成コース 4年) 原田 陽平

【研究の目的】

がん遺伝子パネル検査の臨床への更なる活用のため variants of unknown significance (VUS)の解析は重要な課題である。実臨床で原発不明がん症例に対して行った同検査で *ERBB2* の extracellular domain(ECD)の新規 VUS の E401G を認め病原性が疑われた。HER2 をコードする *ERBB2* の ECD 変異の活性化機序は未知の点が多く、E401G の生物学的意義及び活性化機序を明らかにする事を目的とした。

【方法】

既知の *ERBB2* 活性型変異の S310F と E321G に加え E401G 発現ベクターを作成した。細胞株に野生型または変異型 HER2 を発現させ HER2 や関連タンパクのリン酸化、*in vitro* 及び *in vivo* での生物学的影響を見た。またスーパーコンピューターを用いた molecular dynamics シミュレーション解析で活性化機序を解析した。

【結果と考察】

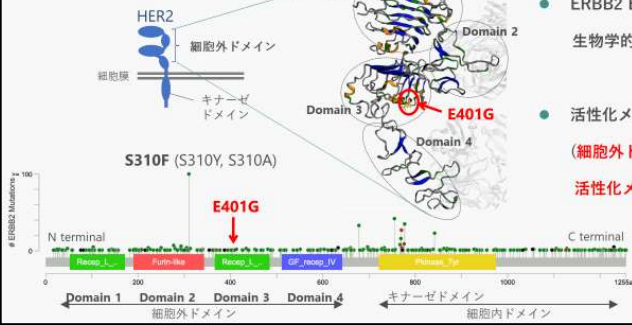
症例において腫瘍と末梢血単核球由来の DNA のサンガーシーケンスによる解析から E401G 変異は体細胞変異であり、FISH と digital PCR による解析から E401G 変異型優位の amplification を伴う事が明らかとなった。E401G の機能解析で *ERBB2* E401G は S310F と同様 HER2 の C 末端のリン酸化を促進した。また他の HER ファミリー蛋白のリン酸化の評価では、E401G と S310F で共に EGFR のリン酸化の亢進を認めたため、これらの変異で HER2-EGFR ヘテロダイマーあるいは HER2 ホモダイマーを介した活性化機序が推察された。そこでダイマーの安定性に関して molecular dynamics シミュレーション解析を実施したところ、E401G や S310F は EGF 非依存性に EGFR-HER2 ヘテロダイマーが安定化しており、*ERBB2* ECD 変異の活性化機序における新たな知見が示された。さらに HER2-EGFR ヘテロダイマーの主要な下流シグナルである MAPK キナーゼ経路のシグナル分子である ERK のリン酸化が E401G や S310F で亢進する事を確認した。E401G の生物学的影響の評価においては、*ERBB2* E401G 導入細胞は野生型と比べ *in vitro* で浸潤能が、*in vivo* で腫瘍増殖能が亢進した。

【結論】

本研究は *ERBB2* の ECD 変異の活性化機序において治療開発に寄与する新たな知見をもたらし、VUS の機能解析における wet と dry のプロセスを統合した解析モデルとなりうる。

ERBB2 E401Gの局在と研究の目的

■ ERBB2遺伝子異常の報告部位と頻度
(MSK-IMPACT, TCGA データベースより)



研究の目的

- ERBB2 E401G変異の生物学的意義は？
- 活性化メカニズムは？
(細胞外ドメイン変異の活性化メカニズムは不明な点が多い)

図 1

機能解析に用いたベクター・細胞株

■ HER2 発現ベクターの作成



■ 使用した細胞株ごとのHER2発現レベルの確認

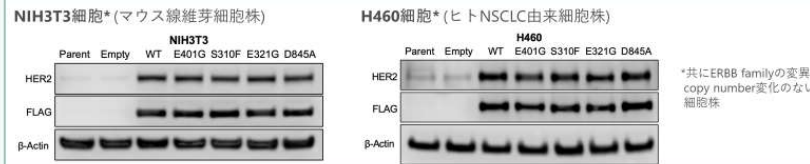


図 2

E401G, S310FではHER2-EGFRダイマーの下流シグナル(ERK)が活性化

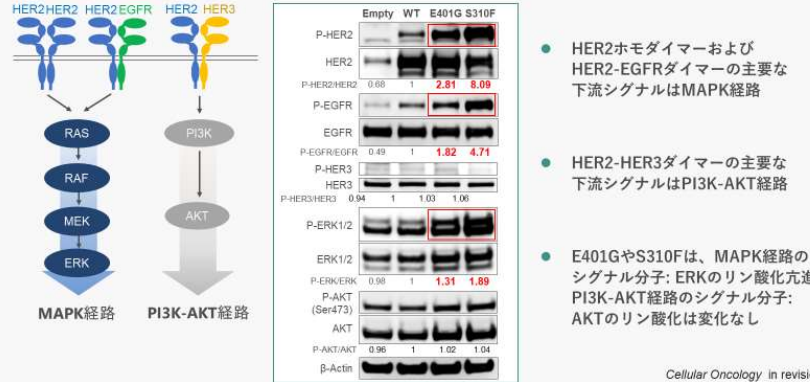


図 3

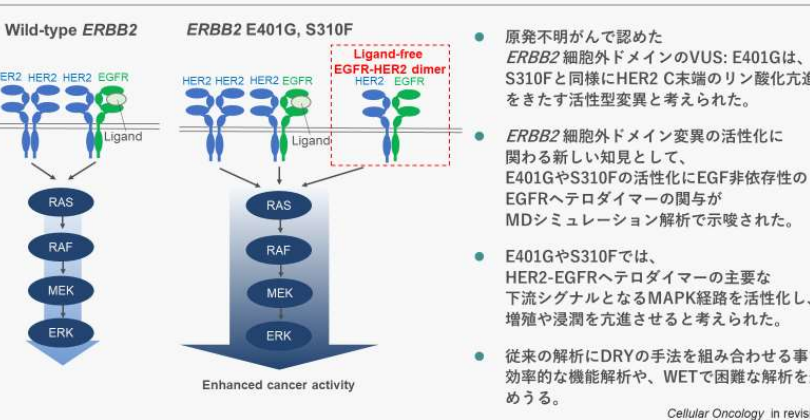


図 4

発表4 「胃がんにおける *ERCC1* の主要なアイソフォームを検出する抗 *ERCC1* モノクローナル抗体の作製」

長崎大学(がん専門医師・歯科医師養成コース 4年) 大石 敬之

【諸言】

シスプラチンをベースとした化学療法は切除不能進行胃がんをはじめ、非小細胞肺癌、頭頸部がんなどさまざまながんに対する標準治療として広く用いられている。シスプラチンは二本鎖 DNA の架橋構造(ICL)を形成することで DNA 修復と複製を阻害し細胞死を誘発する。シスプラチンによって引き起こされる DNA 損傷は、主にヌクレオチド除去修復と Fanconi anemia pathway によって修復される。ヌクレオチド除去修復では、除去修復相補交差因子 1(excision repair cross-complementing group 1 :*ERCC1*)が xeroderma pigmentosum group F (XPF)と緊密な複合体を形成し DNA エンドヌクレアーゼとして機能する。*ERCC1*-XPF ヘテロダイマーは白金-DNA 付加物を認識し、ICL に切開を導入するために必要となる。このため *ERCC1* は白金製剤による DNA 損傷の修復に重要な役割を果たしている。また、*ERCC1* の過剰発現はプラチナベースの化学療法に対する抵抗性につながる可能性が考えられており、胃がんや非小細胞肺癌では *ERCC1* の過剰発現はシスプラチンによる化学療法への抵抗性との関連が示唆されている。進行胃がんにおいては、*ERCC1* の mRNA 発現レベルとシスプラチンと 5-フルオロウラシル併用化学療法の効果に相関が報告されている。このように、*ERCC1* の発現レベルはシスプラチンによる化学療法に対する効果予測因子となり得ると考えた。*ERCC1* 遺伝子は選択的スプライシングにより 4 つのアイソフォーム(201, 202, 203, 204)を生成する。Friboulet らは肺癌細胞株 A549 のゼノグラフトモデルにおいて、アイソフォーム 202 のみがシスプラチン耐性に寄与すると報告したが、各アイソフォームには多様な機能ドメインが含まれており、シスプラチンや他のプラチナ製剤による DNA 損傷修復への他のアイソフォームの関与は解明されていない。したがって、202 だけでなく *ERCC1* の他の主要なアイソフォームも検出する抗体は、シスプラチンや他の白金化合物に対する感受性の評価に役立つ可能性があると考えた。本研究では、免疫組織化学的染色により腫瘍サンプル中の *ERCC1* の発現レベルを評価するために、高親和性抗体を取得する方法を使用して、新規抗 *ERCC1* モノクローナル抗体を開発した。

【対象と方法】

ヒト *ERCC1* アイソフォーム 202 をマウスに免疫し、30 種のハイブリドーマ培養上清を調製した。Western blot 法で 26 種の培養上清が *ERCC1* の予測サイズ 37 kDa タンパク質を検出した。精製したハイブリドーマクローンを ELISA 法、western blot 法、免疫染色法にて評価し、抗体の候補となるクローンを選定し、大量培養法によりモノクローナル抗体 9D11 を調製しさらに評価を行った。

【結果】

ヒト *ERCC1* に対するモノクローナル抗体 9D11 を開発した。9D11 抗体はエクソン 3 コード領域を欠く 204 以外の 201、202、203 のアイソフォームを特異的に検出した。9D11 抗体と 4 種のアイソフォームを検出する市販のポリクローナル抗体を用いて、western blot 法により 17 種類のヒト胃がん細胞株で *ERCC1* の発現を分析したところ、すべての細胞株が *ERCC1* の主要なアイソフォームとして 201、202、203 のいずれかを発現しており、204 の発現はみられないことがわかった。また、胃がん患者の腫瘍組織の免疫組織化学的染色では、*ERCC1* タンパク質は細胞核でのみ検出され、血管内皮細胞の核と同様に中程度のレベルの陽性が観察された。

【考察】

ERCC1 高発現は胃がんのみならず、肺がん、頭頸部がん、卵巣がんなどでもシスプラチン抵抗性を示し、*ERCC1* の発現はシスプラチンによる治療効果の予測因子となる可能性が示唆されている。しかしながら、これまで臨床で *ERCC1* の発現レベルを評価する方法は確立されていない。今回作成した抗ヒト *ERCC1* モノクローナル抗体(9D11 抗体)は *ERCC1* 過剰発現細胞株および胃がん患者の腫瘍組織の免疫組織化学的検討により、腫瘍細胞の核への良好な染色を確認することができた。また、9D11 抗体は胃がん細胞株で主要な 3 つのアイソフォーム 201、202、203 を認識することを確認した。TCGA データベースにおいて、*ERCC1* 遺伝子増幅は、胃がん、膵がん、頭頸部がん、非小細胞肺癌、肝細胞がん、乳がんなど様々な腫瘍で確認されており、9D11 抗体はそれらの腫瘍の治療効果予測バイオマーカーのひとつとして有用である可能性が考えられた。

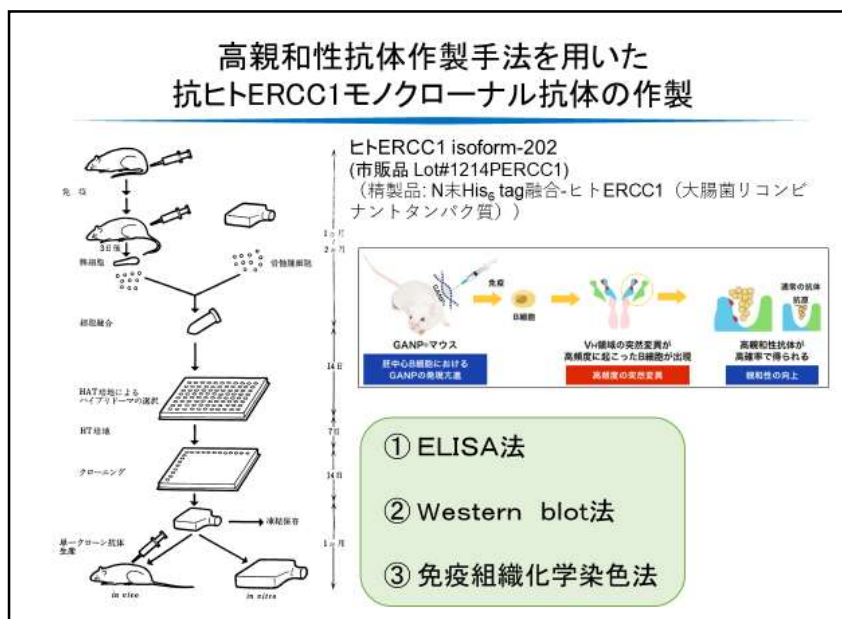


図 1

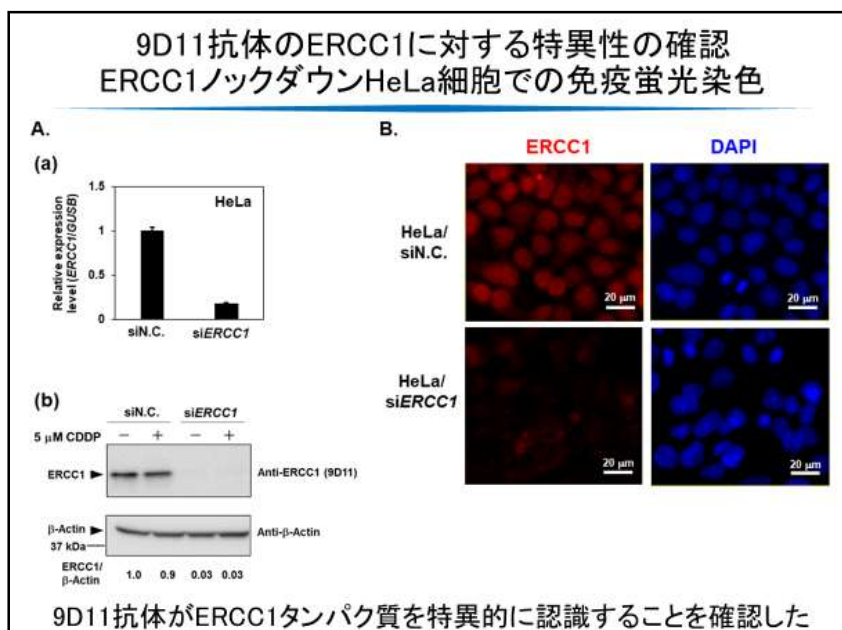


図 2

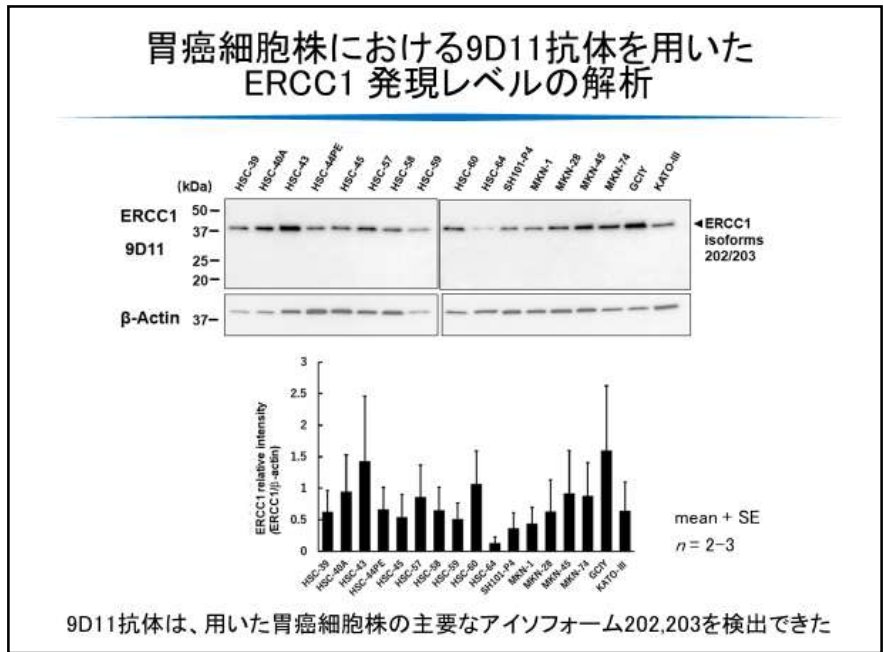


図 3

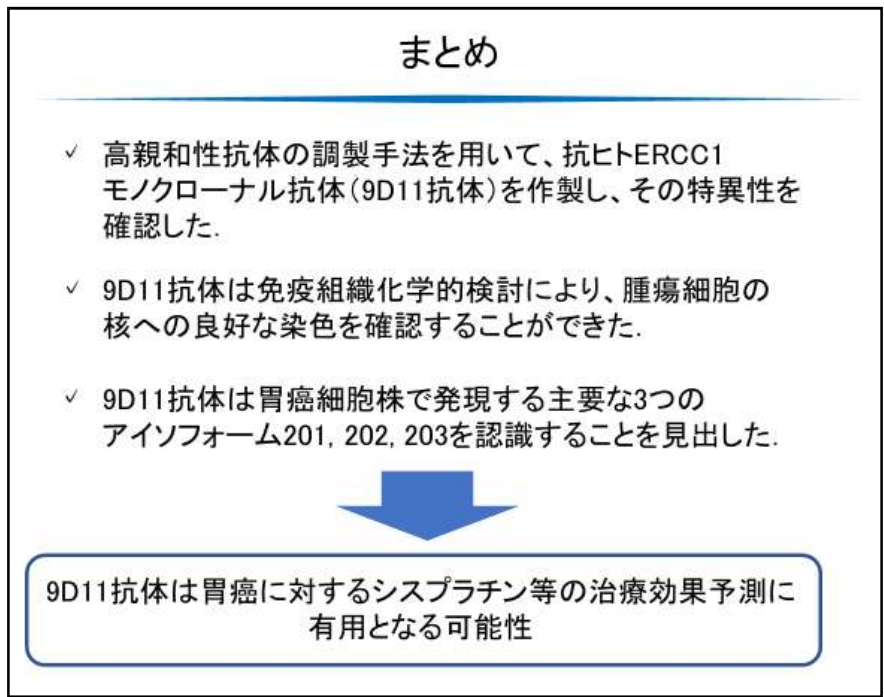


図 4

発表5 「胃癌における PD-L1 (Programmed death ligand-1) の spatial, temporal heterogeneity の解析」

熊本大学(研修医・大学院一体型がん専門博士養成コース 令和元年度修了) 山下 晃平

【背景・目的】

乳腺センチネルリンパ節(MSLN)は乳癌が最初に転移する腋窩リンパ節である。MSLN は腋窩動脈の支配領域内に存在しており、腋窩動脈に頻出する各種の走行変化の影響を受けることが推察されるが、腋窩リンパ節の血流支配について詳細に検討した報告はない。

本研究では、①MSLN の血流支配様式と腋窩動脈の走行変化をあわせて検索し、②腋窩動脈走行変化の形成機序をリンパ節支配血管との関連をもとに発生学的観点から検討することを目的とした。

【対象・方法】

本学解剖実習に提供された解剖体 41 遺体の腋窩 49 側を対象とした。腋窩動脈の各血管分枝とリンパ節の支配動脈を手術用の拡大鏡を用いて用手的に剖出した。腋窩リンパ節の分類は乳癌取り扱い規約に準じ、MSLN を含むレベル Ib(レベル1の浅層)リンパ節の血流支配を検索対象とした。腋窩動脈の主要な走行変化については①腕神経叢の神経束合流部を貫いて深層へ至る「標準型」②腕神経叢を貫通せずに浅層を走行する「浅上腕動脈(BS)型」③深層系血管枝が外側胸動脈から起始し腕神経叢を貫通せず深層へ至る「浅肩甲下動脈(SSbsA 型)」と定義した。また本研究では、Ib リンパ節に複数の支配枝を認めたため、各血管枝の影響の強さを検討する目的で Blood supply ratio(各血管枝が支配するリンパ節の個数を全ての個数で除した)を用いた。

【結果】

Ib リンパ節は複数認め、乳腺や周囲組織からのリンパ管が流入(MSLN)。また、複数のリンパ節同士による癒合形成が散見された。神経や血管周囲で癒合が生じる症例もあった。腋窩動脈系の基本構築としては、標準型(25 例:51%)に匹敵する頻度で SSbsA 型(21 例:42.9%)を認めた。

Ib リンパ節群の血管支配は外側胸動脈(LTA)、下胸筋動脈(IPA)、胸背動脈(TdA)、浅胸動脈(STA)の 4 種類の親動脈に由来し、SSbsA 型か標準型 SbsA 型かで分布様式に差を認めた。Blood supply ratio で比較した結果、標準型 SbsA 群で IPA と TdA、SSbsA 群で LTA と STA からの支配が有意に多かった。

【考察】

上肢血管系は、胎生 30 日頃に発生する毛細血管網の中から腋窩動脈の本幹となる頸部節間動脈と、肋間動脈から外側胸動脈を逆行し上腕動脈へと至る肋間上腕経路を軸として、選択的にリモデリングされる。本研究では腋窩動脈走行変化の分岐点の血管枝と還流領域にある Ib リンパ節に着目した。発生初期の上肢血管網のなかで、IPA が Ib リンパ節の主支配枝となった場合、肋間-上腕経路が発達せず節間動脈からの主軸が主体となり、SSbsA が出現しない。LTA が主支配の場合はこれを介した肋間-上腕経路が発達した結果として、SSbsA が誘導される機序を推察した。

臨床上的課題としては、①神経血管周囲で MSLN が癒合形成した場合、生検単独でも神経損傷が発生するリスクがある。②血管柄付リンパ節移植に用いる腋窩 Ib リンパ節のグラフト血管として、現在認識されていない IPA や STA も重要。③癒合形成リンパ節では複数のリンパ節内で複数の導出血管へ浸潤しうるためリンパ節内の血管を介した癌の血行性転移を起こしやすい可能性が示唆された。

【結論】

MSLN の支配血管 4 種類が明らかになり、この血流支配の違いが腋窩動脈走行変化を誘導する一因となる可能性が示唆された。また標準解剖学名にない血管枝であっても、発生学上・臨床上の重要性が示唆された。

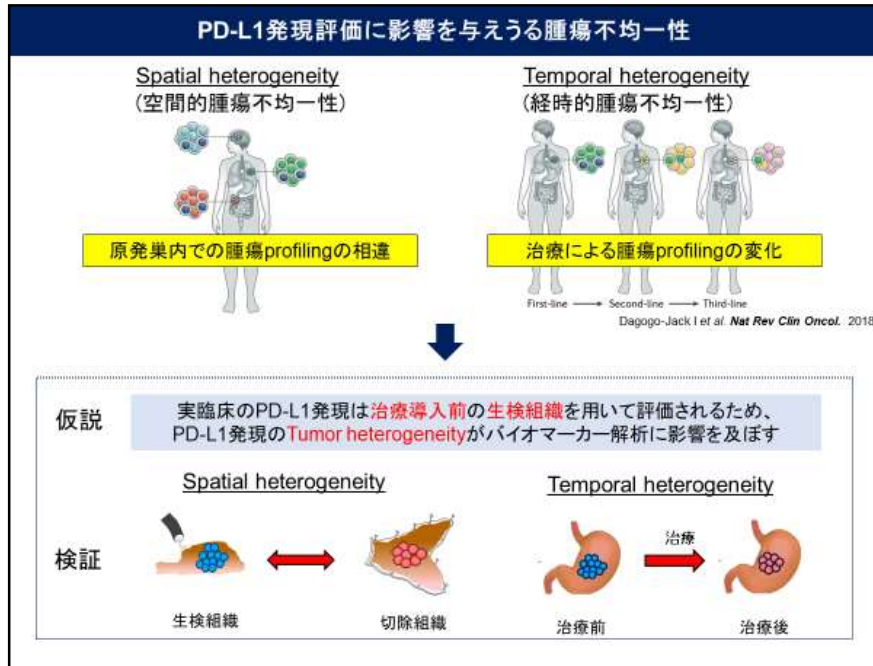


図 1

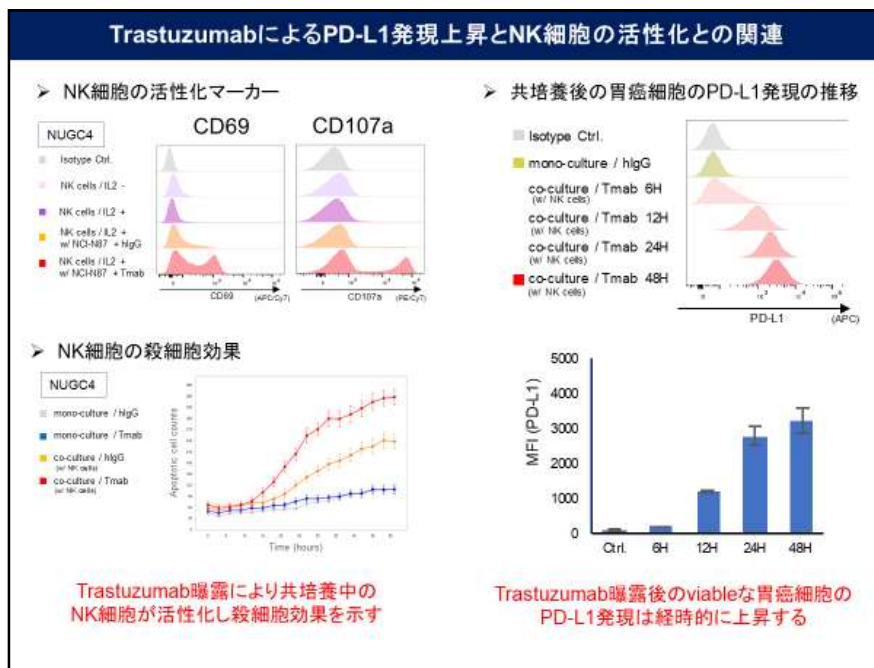


図 2

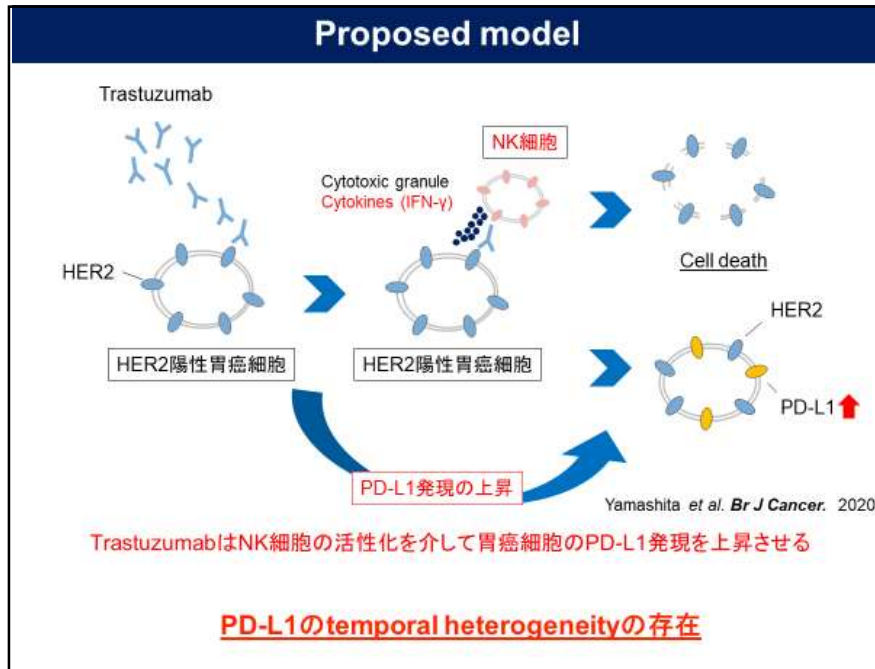


図 3

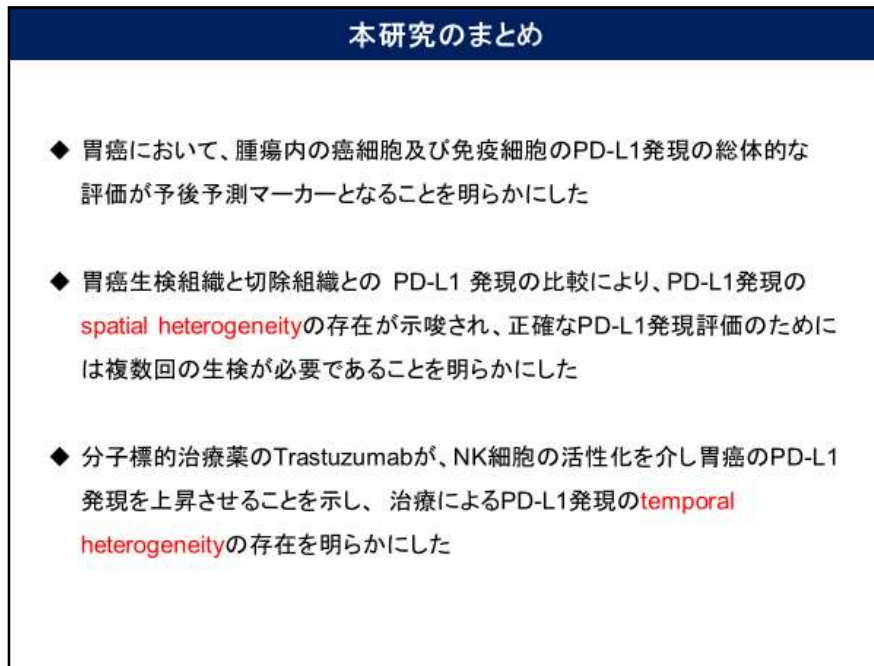


図 4

発表6 「癌腹膜播種に対する近赤外蛍光蛋白発現組換えレオウイルスを用いた新規診断・治療法の開発」

大分大学(ゲノム医療研究者養成コース 4年) 小川 雄大

【目的】

癌ウイルス療法や術中イメージングは近年注目されている。腫瘍溶解性レオウイルスは非病原性であり、ras 経路が活性化する癌細胞で選択的に増殖し細胞溶解を引き起こす。我々は胃癌や膵癌に対するレオウイルスの殺細胞効果を報告してきた。本研究は術中イメージングに資する蛍光蛋白発現遺伝子組換えレオウイルスを作成し、微小癌診断と殺癌細胞効果を同時に行う診断治療一体型ナビゲーション手術の開発を目的とする。

【方法】

組換え T3D 型レオウイルスの各分節ゲノムプラスミド(L1~L3、M1~M3、S1~S4 の計 10 本)のうち、パッケージングシグナルが判明している L1、M1 および S2 分節について、近赤外蛍光蛋白質遺伝子 iRFP720 を挿入した組換え分節ゲノムプラスミドをそれぞれ構築した。構築した組換えウイルス用分節ゲノムプラスミドと残りの 9 本の分節ゲノムプラスミドを T7 ポリメラーゼ恒常発現 BHK 細胞に共導入することにより組換えウイルスの作成を行い、培養細胞における増殖性や、ヒト癌細胞株への感染性、蛍光発現および殺細胞効果等について評価した。

【結果】

iRFP720 発現組換えレオウイルスの作出は、L1/5'、M1/3'、M1/5'、S2/3' iRFP720 の 4 つで可能であった。その中でも M1/3' iRFP720 組換えレオウイルスが増殖性、蛍光発現で最も良好な成績を示した。そして、胃癌細胞株(NUGC4、MKN45、MKN45P)および膵癌細胞株(PK1、Panc1)への感染と蛍光発現も確認された。殺細胞効果、増殖性は野生型より低下していたため、細胞融合蛋白質 FAST 遺伝子をトランスフェクションした BHK/T7 細胞に M1/3' iRFP720 組換えレオウイルスを感染させることにより、ウイルス力価の上昇を確認することができた。

【結語】

M1 分節 3'末端側への遺伝子挿入により近赤外蛍光蛋白質 iRFP720 発現組換えレオウイルスの作成が可能であることが明らかとなった。さらに本ウイルスによる癌細胞への感染および蛍光発現を確認することができた。野生型に比べて殺細胞効果、増殖性の低下が判明し、これは挿入遺伝子の大きさに原因があると考えられた。その改善に向けて、今後はサイズの小さい近赤外蛋白質遺伝子への代替について検討を行っていく。

本研究の目的

術中微小癌診断と殺癌細胞を同時に行う診断治療
一体型ナビゲーション手術に資する
近赤外蛍光蛋白質発現組換えレオウイルスを開発する

方法

1. iRFP720遺伝子挿入ゲノムプラスミドの構築
2. iRFP720発現組換えレオウイルスの作出
3. 高力価ストックウイルス作成のための細胞融合遺伝子 FAST (Fusion-associated small transmembrane protein) の利用
4. *in vitro* におけるiRFP720発現組換えレオウイルスの癌細胞に対するViabilityの検討

図1

図2

iRFP720発現組換えレオウイルスの作出

レオウイルスT3DRL (L1/3'iRFP720) の場合

各ゲノムプラスミド計10本を T7RNAポリメラーゼ恒常発現細胞に共導入

トランスフェクション

BHK/T7-9細胞

組換えレオウイルス作出

- ・ 蛍光顕微鏡観察 (EVOS)
- ・ RT-PCR

で確認

結果のまとめ

- ・ 今回検討した中で、近赤外蛍光蛋白質iRFP720遺伝子 (951塩基の外来遺伝子) の挿入には、レオウイルスゲノムのM1分節3'末端側が最も適していることが分かった。
- ・ 組換えレオウイルスの増殖能は野生型ウイルスと比べて著しく低下していた。
- ・ FAST遺伝子導入により培養上清中の組換えウイルスの力価は改善した。
- ・ 組換えレオウイルスの胃癌および膵癌細胞への感染および蛍光発現も確認された。

図3

図4

5. 講評

鹿児島大学病院 腫瘍センター
教授 上野 真一

令和3年12月13日に、新ニーズに対応する九州がんプロ養成プラン履修生による教育研究成果発表会が開催されました。九州内の履修生の中から6名の方に発表いただきました。

この中では、放射線治療による腫瘍細胞数変化予測モデル、子宮頸癌に対する術前化学療法、ERBB2 VUS に対する病原性の証明、ERCC1 モノクローナル抗体の開発、胃癌 PD-L1 発現の経時的腫瘍不均一性、独自の近赤外蛍光蛋白を用いた癌腹膜播種診断などに関する新たな知見が示されました。どの発表も臨床的疑問点に端を発したもの、独自技術の臨床的応用を求めたもので、がんプロ生の研究として非常にその目的に合致したものでありました。

ご多忙中、主催いただいた馬場英司先生、大田恵一先生、またご指導や座長を賜りました諸先生方に感謝申し上げますとともに、発表いただいた皆様の益々の発展を祈念しております。

6. 研究奨励賞 受賞者

原田 陽平(佐賀大学)

この度研究奨励賞を頂く事ができ大変嬉しく思っております。基礎研究を通じがんの生物学や遺伝子に関して深く考える機会を得る事ができ、辛い時期もありましたが大学院での学びは貴重な財産となりました。指導教官の荒金先生および木村先生、共同研究を頂いた京都大学の先生方を含め、大変多くの方々のお力をお借りした事を心より感謝申し上げます。また今回の発表の機会を与えて頂いた九州がんプロ事務局の方々にも御礼申し上げます。引き続きどうぞ宜しくお願い致します。



小川 雄大(大分大学)

この度は研究奨励賞を授与して頂き、誠にありがとうございます。大変光栄に思うと共に、身の引き締まる思いです。本研究を遂行する上でご指導、ご鞭撻とご援助を頂いた方々に改めて感謝を申し上げます。

抗腫瘍療法としてのウイルス療法は、今後もさらに発展を遂げていく分野であると考えています。レオウイルスを用いた微小癌診断と殺癌細胞効果を同時に行う診断・治療一体型ナビゲーション手術の開発に向けて、これからも日々精進して参ります。



山下 晃平(熊本大学)

この度は、新ニーズに対応する九州がんプロ養成プラン研究奨励賞に選出して頂き誠にありがとうございます。このような素晴らしい賞をいただけたのも、大学院時代の私の研究に携わっていただきました皆様方のおかげと厚く御礼を申し上げます。この経験は今後の私の医師人生に大きく影響を及ぼすものと確信しております。今後も臨床医としての視点を忘れずに研鑽を積み、癌診療へ少しでも貢献できればと思います。ありがとうございました。



文部科学省『多様な新ニーズに対応する「がんプロ専門医療人材(がんプロフェッショナル)養成プラン』採択事業
新ニーズに対応する九州がんプロ養成プラン 令和3年度 教育研究成果発表会 実施報告書
編集・発行 令和4(2022)年3月 九州がんプロ事務局(九州大学医系学部等事務部)
<http://www.k-ganpro.com/>

文部科学省『多様な新ニーズに対応する「がん専門医療人材（がんプロフェSSIONAL）」養成プラン』
採択事業 新ニーズに対応する九州がんプロ養成プラン

令和3年度 教育研究成果発表会 実施報告書

発行 令和4（2022）年3月

編集・発行 新ニーズに対応する九州がんプロ養成プラン 事業運営推進協議会
九州がんプロ事務局（九州大学医系学部等事務部）
ijsganpro@jimu.kyushu-u.ac.jp
<http://www.k-ganpro.com/>