

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	松 原 淳 一
論文題目	Identification of a Predictive Biomarker for Hematologic Toxicities of Gemcitabine (ゲムシタビン治療における血液毒性予測マーカーの開発)		
(論文内容の要旨)			
【背景】膵癌は最も予後の悪い癌の一つであり、日本における癌死因の第 5 位を占めている。切除不能膵癌に対する標準的治療法はゲムシタビン（GEM）単剤による全身化学療法であるが、その用量制限毒性は血液毒性であり、全体の 20~30%の症例が Grade 3 以上（National Cancer Institute Common Toxicity Criteria, version 2.0）の好中球減少症を、約 10%が Grade 3 以上の血小板減少症を発症する。これらは場合によっては致命的な有害事象につながる可能性を有しているため、GEM による血液毒性を治療前に予測できるような信頼性の高いバイオマーカーが必要とされている。 【方法】国立がん研究センター中央病院および東病院において GEM 単剤療法を受けた切除不能膵癌症例の 3 つの独立したコホート（Modeling コホート〔血漿〕：166 例、Validation コホート 1〔血漿〕：87 例、Validation コホート 2〔血清〕：52 例）からなる合計 305 例の治療前血液検体を用いて、血液毒性予測マーカーの探索を行った。これらの症例はすべて、組織学的に証明された浸潤性膵管癌で切除不能であること、最低でも 2 サイクル以上の GEM 単剤療法を受けていること、の 2 つの基準を満たしていた。まず Modeling コホートにおいて、はじめの 2 サイクルの間の血液毒性をもとに 2 つの両極端な症例群（強い副作用あり：25 例、副作用なし：22 例）を選出し、それらの治療前血漿プロテインプロファイルの群間比較をショットガンプロテオミクス解析の手法で行った。血漿サンプルを質量分析機（MS）で測定するために、まずサンプルを IgY Affinity Column を用いて処理し 12 種類のアバンダントタンパクを分離除去した。その flow through として得られたそれら以外のタンパクを含む分画をトリプシン処理し、nanoLC-qTOF-MS にて測定し解析を行った。 【結果】検出された 60,888 ピークの中で最も 2 群間で差が大きかったペプチドピークのアミノ酸配列を MS/MS 測定により同定したところ、それはハプトグロビンに該当するペプチドであった。血中ハプトグロビンの発現量の差は、Western Blotting および臨床現場でも簡便に測定できるネフェロメトリー法でも確認された。なお、比較した 2 つの症例群の患者背景では、年齢、全身状態、体表面積、腎機能、肝機能、GEM の pharmacokinetics data において差はなかった。次に、全 305 症例において治療前血中ハプトグロビン濃度をネフェロメトリー法で測定し血液毒性との関連を検討したところ、より強い血液毒性が見られた症例群ほど有意に治療前ハプトグロビン濃度が低下していたことが、3 つ全てのコホートにおいて再現性を持って確認された。その他の臨床情報も考慮した多変量解析により血液毒性予測モデルを構築した結果、血中ハプトグロビン値およびその表現型、治療前好中球数・血小板数、体表面積が有意に血液毒性予測に関与する因子として選ばれ、このモデルの臨床的有用性は、独立した 3 つのコホートにおいて再現性良く確認された。			

【結論】切除不能膵癌に対する GEM 単剤療法において治療前血中ハプトグロビン濃度は、治療によって強い血液毒性を発症する可能性が高い症例を事前に選び出すのに有用な予測マーカーである。
（論文審査の結果の要旨）
切除不能膵癌に対する標準的治療法は、抗癌剤ゲムシタビン単剤による全身化学療法であるが、その副作用を治療前に予測できるような信頼性の高いバイオマーカーは確立されていない。そこで申請者らは、ゲムシタビン単剤療法を受けた切除不能膵癌症例の治療前血液検体を用いて、プロテオミクス解析によるマーカー探索を行った。
その結果、治療前血中ハプトグロビン濃度が、治療後に発症する血液毒性与有意に相関していることを見いだした。そして、治療前ハプトグロビン濃度がより低い症例ほど、治療による血液毒性が有意に強く見られることを、合計 305 症例からなる 3 つの独立したコホートにおいて再現性を持って確認した。次に、その他の臨床情報も考慮した多変量解析により血液毒性予測モデルを構築した結果、血中ハプトグロビンの値およびその表現型、治療前好中球数・血小板数、体表面積、を血液毒性予測に有意に関与する因子として選出した。さらに、この予測モデルの臨床的有用性を、3 つの独立したコホートにおいて再現性良く確認した。
以上の研究は、抗癌剤ゲムシタビンによる血液毒性発症の個人差を予測するマーカー開発に貢献し、その血液毒性の発症メカニズムの解明にもつながるものである。すなわち、切除不能膵癌に対する抗癌剤治療の個別化実現に寄与するところが多い。
したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 12 月 8 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。