

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10514

研究課題名(和文) 生検組織診断による食道癌個別治療の実現

研究課題名(英文) Personalized treatment for esophageal cancer using detailed examination of biopsy specimen

研究代表者

丹黒 章 (TANGOKU, Akira)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授

研究者番号：10197593

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：当教室でタキサンを含む3剤併用化学療法から治療開始した食道扁平上皮癌患者から採取した組織検体を用いて、7つの遺伝子発現をRT-qPCRを用いて測定した。化学療法効果別の比較では、AKT-1とPD-L1の高発現が非奏効と相関していた。治療前後の発現は、AKT-1、PD-L2が上昇していた。腫瘍因子を含めた多変量解析では、PD-L1が化学療法の効果予測因子、予後予測因子はp70S6Kであった。治療後の解析では、mTOR及びPD-L2が治療効果予測因子で、4E-BP1が予後予測因子であった。PI3K/AKT経路とPD-L1/L2は食道扁平上皮癌においてターゲットとなる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食道扁平上皮癌(ESCC)は、本邦での死亡第7位の予後不良な癌腫である。進行ESCCに対して術前化学療法(NAC)が術後化学療法よりも予後良好であることが示された(JCOG9907)が、著効を呈する症例は限られている。切除可能例が増悪により切除不能となる場合やNAC後に根治切除を行っても、早期に再発する症例があり、NACは正しい治療選択であったかと悔やむことも少なくない。NAC前に予後やその治療効果予測を行うことができればこれらの問題を解決できると考える。そこでESCCの化学療法前後の遺伝子発現を比較することでより詳細な予後や治療効果因子を同定することができると考慮し、この研究を計画した。

研究成果の概要(英文)：Fifty-one ESCC patients were treated with primary chemotherapy followed by radical surgery, and twenty-three patients were treated with chemotherapy alone. Gene expression analyses were made using RT-qPCR with RNA extraction from the tissue biopsy samples before chemotherapy especially focused on PIK3CA, AKT-1, mTOR, 4E-BP1, p70S6K, PD-L1, and PD-L2. Further analyses were performed using RNA extraction from 67 ESCC patients after the chemotherapy. Result of the expression of PIK3CA, mTOR, 4E-BP1 and p70S6K were significantly decreased after chemotherapy. AKT-1 and PD-L2 levels were increased after the primary chemotherapy compared with before chemotherapy. Multivariate analysis revealed that high PD-L1 expression was associated with the response to chemotherapy and high p70S6K expression was nominated as a prognostic factor. The present study demonstrated that PD-L1 was related to the response to chemotherapy and p70S6K was a prognostic factor in ESCC patients.

研究分野：医歯薬学 消化器外科学 食道外科

キーワード：食道癌 術前化学療法 治療効果予測 予後予測 Tissue Array

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食道扁平上皮癌(ESCC)は、日本国内における癌の死亡原因第7位であり、依然として主要な癌種の1つである。診断時、すでに進行癌で見つけられることも少なくない。切除可能な進行癌においては、術前(初回)化学療法と手術の組み合わせが標準治療とされている。当科では、2004年より食道癌に対する初回化学療法として5-FU+シスプラチンにドセタキセルを上乗せする3剤併用の初回化学療法により、高い奏効が得られることを報告してきた(Esophagus 2010)。しかし、3剤による本治療も薬剤耐性が存在し、2コース目以降の獲得耐性が課題である。われわれのヒト食道がん細胞株を用いた *in vitro* 実験から、生存シグナルに重要な PI3K / AKT シグナル伝達経路が、化学療法獲得耐性に強く関連するという結果を得た(Anticancer Res 2009)。

近年、癌免疫学の進歩により、免疫チェックポイント経路が注目され、ESCC の治療にも有望であると期待されている(Oncotarget 2016)。PD-L1 過剰発現は様々な固形癌で予後不良と関連しており、それを阻害する免疫チェックポイント阻害剤は様々な癌種に対して治療効果と予後の改善が報告されている(J clin Oncol 2017)。

本研究では、ESCC において PI3K/AKT シグナル伝達経路と免疫チェックポイント経路の遺伝子発現について、初回化学療法の前後で遺伝子発現解析を行い、患者の臨床データと比較することで、ESCC に対して化学療法の効果予測や予後にかかわるバイオマーカーを探索し、個別治療を実現したい。

2. 研究の目的

ESCC における化学療法の治療過程における遺伝子発現変化に着目し、初回化学療法前後の食道癌患者の生検組織を用いて、PI3K/AKT シグナル経路と免疫チェックポイント経路に関連する遺伝子発現を精査し、臨床データとを比較分析することにより、予後予測因子や化学療法(ドセタキセル+5-FU+シスプラチン併用療法)の効果予測因子を同定すること。さらには新たな創薬のための基盤研究を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

当教室で ESCC 患者から採取した正常食道粘膜及び腫瘍組織検体を用いて治療前(74例)と治療後(67例)の RNA を抽出し、PI3K, AKT-1, mTOR, 4EBP-1, p70S6K, PD-L1, PD-L2 の mRNA 発現レベルを定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR)を用いて測定する。その遺伝子発現解析と詳細な clinicopathological factor と臨床経過と比較・検討し、化学療法の効果予測因子と予後因子を同定する。同時に化学療法後に発現量が上昇する因子、化学療法に対する奏効が認められなかった患者群で有意に高発現している因子を抽出し、耐性関連遺伝子として同定する。

4. 研究成果

治療前の腫瘍組織内における遺伝子発現レベルは、7つの遺伝子の中で 4E-BP1 (2.86, IQR: 1.35-5.77)が最も高く、その他の遺伝子の発現量は1前後であった。遺伝子発現レベルと化学療法効果別の比較では、AKT-1 と PD-L1 の高発現が非奏効と相関していた。次に治療後の発現レベルでは、4E-BP1, AKT-1 の順に高発現が認められた。治療前後の発現量の変化では、治療後の AKT-1 と PD-L2 の上昇が非奏効群で多く認められた(each P=0.034, P=0.020)。非奏効群における治療前後の発現解析では、PIK3CA と mTOR、p70S6K は減少していたが(each P=0.076, P=0.062, P=0.027)、AKT-1, 4E-BP1, PD-L1 では不変であった(each P=0.485, P=0.216, P=0.259)。

一方、PD-L2 では上昇していた。治療前検体における化学療法効果予測の検討では、単変量解析では、臨床病理組織学的因子であるアルコール歴を有する症例(P=0.037)、腫瘍径 5cm 以上の症例(P=0.002)が検出され、遺伝子発現では、PIK3CA, AKT-1, 4E-BP1, p70S6K, PD-L1 の高発現が化学療法効果不良因子であった(each P=0.062, P=0.034, P=0.062, P=0.062, P=0.020)。

これらを含めた多変量解析では、腫瘍径 5cm 以上(OR: 6.408, 95% CI: 1.714-23.95, P=0.006)と PD-L1 高発現(OR: 2.998, 95% CI: 1.043-8.619, P=0.042)が化学療法の独立した効果予測因子であった。治療前予後の検討では、単変量解析で組織学的分化度が低分化である症例(P=0.001)、他臓器転移を有する症例(P<0.001)が予後不良であり、遺伝子発現では AKT-1, mTOR, 4E-BP1, p70S6K の高発現が予後不良因子であった(each P=0.026, P=0.021, P=0.058, P=0.017)。

これらを含めた多変量解析では、低分化(HR: 4.115, 95% CI: 1.733-9.803, P<0.001)、他臓器転移を有する症例(HR: 7.194, 95% CI: 2.538-20.40, P<0.001)、p70S6K 高発現(HR: 2.518, 95% CI: 1.058-5.988, P=0.037)が独立した予後不良因子であった。

治療後の解析では、アルコール歴を有する症例(P=0.028)、mTOR(P=0.033)及び PD-L2(P=0.003)高発現が治療効果不良因子であり、低分化(P=0.003)、他臓器転移を有する症例(P<0.001)、4E-

BP1(P=0.018)高発現が予後不良因子となった。

この研究結果からヒト食道癌組織における PI3K/AKT シグナル伝達経路と PD-L1/L2 について、化学療法前後の遺伝子発現レベルにおける詳細な結果が得られた。

mTOR、PD-L1 と PD-L2 は、化学療法の効果予測因子であり、AKT-1、p70S6K、4E-BP1 は予後予測因子であった。食道扁平上皮癌において、PI3K/AKT シグナル経路の活性化と PD-L1/PD-L2 の高発現は、化学療法効果予測と予後に関連していることを示しており、細胞内微小環境を改善することにより、魅力的なターゲットとなる可能性があると考えられた。

以上の結果を、英文論文にまとめ General Thoracic Cardiovascular Surgery に投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Seiya Inoue, Masakazu Goto, Takeshi Nishino, Takahiro Yoshida and Akira Tangoku |
| 2. 発表標題 Treatment strategy of esophageal cancer from the expression of HER2 and EGFR |
| 3. 学会等名 The International Society for Diseases of the Esophagus(ISDE) (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 吉田 卓弘 (YOSHIDA Takahiro) (00380105) | 徳島大学・病院・講師 (16101) | |
| 研究分担者 | 西野 豪志 (NISHINO Takeshi) (80645193) | 徳島大学・病院・特任助教 (16101) | |
| 研究分担者 | 井上 聖也 (INOUE Seiya) (50563813) | 徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・特任助教 (16101) | |
| 研究分担者 | 後藤 正和 (GOTO Masakazu) (00437659) | 徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・助教 (16101) | |