

令和元年5月17日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16466

研究課題名（和文）DNA修復蛋白の発現を利用した放射線治療効果の予測

研究課題名（英文）Prediction of results of radiotherapy using expression of proteins involved with repair of DNA

研究代表者

長谷川 智一（HASEGAWA, TOMOKAZU）

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：80631168

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：前立腺癌と下咽頭癌のKu70の免疫組織化学染色と臨床因子を用いて、放射線治療の結果を予測するための人工ニューラルネットワーク（ANN）モデルの適用を検討した。前立腺癌の解析において、年齢、グリソンスコア、生検陽性率、治療前PSA値、リスク分類、前立腺体積を臨床因子として使用した。同様に、下咽頭癌においては、年齢、性別、Performance status、臨床的Tステージ分類、亜部位を臨床因子として使用した。ANNによる治療結果予測は感度、特異度、予測結果に基づいたROC曲線のArea under curve(AUC)のいずれも従来法と比較して予測能に優れている結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来方法としては、log-rank法やcox比例ハザードモデルを用いた多変量解析により、危険度の高い因子の解析結果から予後予測が試みられている場合が多い。機械学習のアルゴリズムのひとつである人工ニューラルネットワーク（ANN）では、コンピュータ上に神経細胞組織を模した構造を作成し、擬似的に神経活動を行わせることによって、線形分離し難い情報処理を行うことが可能となる。この方法は、問題となる入力信号と、その答えとなる出力信号を与え、学習させることにより、多数ある患者背景や臨床因子の中から、必要な予測因子を適切に選択することでより精度の高い予測モデルの構築を目指す。

研究成果の概要（英文）：We examined the application of an artificial neural network (ANN) model to predict the outcome of radiation therapy using immunohistochemical staining and clinical factors of Ku70 for prostate and hypopharyngeal cancer. Age, Gleason score, biopsy positive rate, pre-treatment PSA value, risk classification, prostate volume were used as clinical factors in analysis of prostate cancer. Similarly, in hypopharyngeal cancer, age, gender, performance status, clinical T staging and subsite were used as clinical factors. The treatment result prediction by ANN was a result that the sensitivity, the specificity, and the area under curve (AUC) of the ROC curve based on the prediction result were all superior in prediction ability as compared with the conventional method.

研究分野：放射線治療

キーワード：放射線治療 前立腺癌 機械学習

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在は、放射線治療が施行される場合、腫瘍の大きさや組織型が同じであれば画一的な線量が照射されているが、同じ組織型の腫瘍でも、照射の効果が異なることをしばしば経験する。また、患者間で照射による副作用の程度が大きく異なる場合もしばしばみられ、それは、患者間での正常組織の放射線感受性が大きく異なることに起因する。従って、癌細胞の放射線感受性及び患者の照射に対する耐容能力に応じた個別化した放射線治療が求められている。

細胞の本質的放射線感受性に関しては、最近の基礎研究により、X線による細胞死に最も関係する DNA 2 重鎖切断(DSB)の修復メカニズムが急速に解明されつつある。DNA 2 重鎖切断は相同組換え修復と非相同末端結合修復の少なくとも 2 経路により再結合され、ほ乳類の細胞では、非相同末端結合修復が主たる DNA 2 本鎖切断修復経路である。非相同末端結合修復の概略は、DNA-PK(DNA 依存性プロテインキナーゼ)が、DNA 2 重鎖切断の断端に結合し、リガーゼ IV と結合している XRCC4 蛋白をリン酸化し、リガーゼ IV を安定化して、リガーゼ IV が DNA 切断を再結合するというものである。

我々の研究室では、これまで非相同末端結合修復の主要な蛋白である DNA-PK(DNA 依存性プロテインキナーゼ)について研究を進めてきているが、これまでの研究成果により、(1) DNA-PK 活性と放射線感受性は相関する。(2) 末梢リンパ細胞の DNA-PK 活性が低い患者は、前立腺癌の放射線治療後の晩期直腸出血の頻度が高い。(3) 下咽頭癌、食道癌、前立腺癌では、DNA-PK や XRCC4 の発現が高い癌細胞では、放射線治療成績が不良である。という結果が得られている。

2. 研究の目的

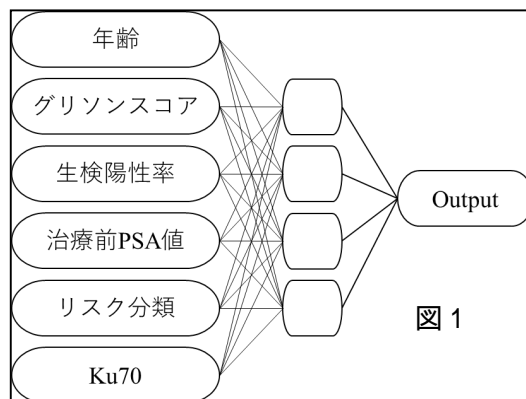
放射線治療の結果の正確な予測は、がんの治療法の個別化された選択にとって不可欠である。これまでの我々の研究室の研究にて、XRCC4 を高発現している食道癌は、低発現に比べ、全生存率や局所制御率が有意に不良で、多変量解析にて、独立した予後因子であることを明らかにした (Med Mol Morphol. 2017 50:25-33)。一方、本申請者は、前立腺癌では Ku70 が有意な予後因子であることを明らかにした (Strahlenther Onkol. 2017 193:29-37)。また、我々の研究室は、下咽頭癌では、Ku70 と XRCC4 が、放射線治療成績の予後因子であることを報告している (Oncol. Letter 2012;4:151-155)。

腫瘍細胞の放射線に対する治療効果を臨床データや DNA 損傷修復に関係する蛋白発現をもとに機械学習を用いて適切な治療効果予測モデル作成することを目的とする。これまでの方法としては、log-rank 法や cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析により、危険度の高い因子の解析結果から予後予測が試みられている場合が多い。機械学習の様々なアルゴリズムはデータに潜むパターンを見つけ出し医療分野での診断・意思決定に利用できる。機械学習のアルゴリズムのひとつである人工ニューラルネットワーク(ANN)では、コンピュータ上にハードウェア的、あるいはソフトウェア的に神経細胞組織を模した構造を作成し、擬似的に神経活動を行わせることによって、線形分離し難い情報処理を行うことが可能となる。この方法は、問題となる入力信号と、その答えとなる出力信号を与え、学習させることにより、未知のデータに対しても正しい答えを出力することが可能となる。

3. 研究の方法

生検標本を用いて、DNA 二重鎖切断修復に関わる蛋白 (Ku70、Ku86、XRCC4) の発現を免疫組織染色で検討し、頭頸部癌、前立腺癌などの放射線治療成績との相関関係を解析する。

具体的には、これまでに当院で悪性腫瘍 (前立腺癌(図 1)、頭頸部癌) に対して放射線治療を受けた患者で、治療前の生検標本を用いて DNA 二重鎖切断修復に関わる蛋白 (Ku70、Ku86、XRCC4) の発現を免疫組織染色で検討する。これら免疫組織染色による蛋白発現の結果と、患者背景 (年齢、性別など) と臨床因子 (既往、血液検査、腫瘍 Staging、治療方法) を予測因子として、実際の治療効果、予後との関連を学習させることで予測モデルを作成する。症例を探索群と検証群に無作為に分類して探索群で予測モデルを作成し、検証群でモデルの精度を検討する。多数ある患者背景や臨床因子の中から、必要な予測因子を適切に選択することでより精度の高い予測モデルの構築を目指す。



4. 研究成果

前立腺癌と下咽頭癌の症例をもとに、入力因子として Ku70 の免疫組織化学染色と臨床因子を用いて、放射線治療の結果を予測するための人工ニューラルネットワーク(ANN)モデルの適用を検討した。

前立腺癌では、2007年8月～2010年10月の間に強度変調放射線治療（IMRT）を受けた58人と、2001年8月～2007年5月までの間に3次元コンフォーマル放射線療法（3D-CRT）を受けた21名を分析した。下咽頭癌では、2002年3月から2009年12月の間に放射線治療を受けた扁平上皮癌患者46例を分析した。標準フィードフォワード、バックプロパゲーションニューラルネットワークにより訓練されたANNモデルを使用して、放射線療法の治療結果を予測した。前立腺癌の解析において、年齢、グリソンスコア、生検陽性率、治療前PSA値、リスク分類、前立腺体積を臨床因子として使用した。同様に、下咽頭癌においては、年齢、性別、Performance status、臨床的Tステージ分類、亜部位を臨床因子として使用した。

予測結果に基づいたROC曲線のArea under the curve（AUC）は、IMRT + ホルモン療法（ADT）で治療した患者群で0.939、IMRT単独群で0.803、3D-CRT単独群で0.960であった。感度と特異度は、IMRT + ADT群では85.7%と90.4%、IMRT単独群では75.0%と88.5%、3D-CRT単独群では92.3%と100%であった。下咽頭癌では、AUCは0.901、感度と特異度はそれぞれ66.7%と88.2%であった。

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	Accuracy (%)	AUC
Discovery (n=28)						
ANN model	85.7	90.4	75.0	95.0	89.3	0.939
MLR model	71.4	85.7	62.5	90.0	82.1	0.884
Validation 1 (n=30)						
ANN model	75.0	88.5	50.0	95.8	86.7	0.803
MLR model	0.0	88.5	0.0	85.2	76.7	0.572
Validation 2 (n=21)						
ANN model	92.3	100.0	100.0	88.9	95.2	0.960
MLR model	69.2	100.0	100.0	66.7	81.0	0.885

以上の結果より Ku70 発現および臨床因子をインプットとして使用して、前立腺癌および下咽頭癌における ANN による放射線療法の治療結果を予測できる可能性がある。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

1. Fukushima Y, Someya M, Nakata K, Hori M, Kitagawa M, Hasegawa T, Tsuchiya T, Gocho T, Ikeda H, Hirohashi Y, Torigoe T, Sugita S, Hasegawa T, Himi T, Sakata KI. Influence of PD-L1 expression in immune cells on the response to radiation therapy in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Radiother Oncol*. 2018 129(2):409-414.
2. Someya M, Hori M, Gocho T, Nakata K, Tsuchiya T, Kitagawa M, Hasegawa T, Fukushima Y, Sakata KI. Prediction of acute gastrointestinal and genitourinary radiation toxicity in prostate cancer patients using lymphocyte microRNA. *Jpn J Clin Oncol*. 2018 48(2):167-174.
3. Hasegawa T, Someya M, Hori M, Matsumoto Y, Nakata K, Nojima M, Kitagawa M, Tsuchiya T, Masumori N, Hasegawa T, Sakata KI. Expression of Ku70 predicts results of radiotherapy in prostate cancer. *Strahlenther Onkol*. 2017 193:29-37.
4. Someya M, Hasegawa T, Hori M, Matsumoto Y, Nakata K, Masumori N, Sakata KI. Local tumor control and DNA-PK activity of peripheral blood lymphocytes in prostate cancer patients receiving radiotherapy. *J Radiat Res*. 2017 58:225-231.
5. Hori M, Someya M, Matsumoto Y, Nakata K, Kitagawa M, Hasegawa T, Tsuchiya T, Fukushima Y, Gocho T, Sato Y, Ohnuma H, Kato J, Sugita S, Hasegawa T, Sakata KI. Influence of XRCC4 expression in esophageal cancer cells on the response to radiotherapy. *Med Mol Morphol*. 2017 50:25-33.

〔学会発表〕(計 1 件)

1. 長谷川智一、染谷正則、馬込大貴、後町俊夫、福島悠希、土屋高旭、北川未央、堀正和、中田健生、坂田耕一 Ku70 発現と人工ニューラルネットワークによる放射線治療結果の予測 日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会 2017 年 11 月 18 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。