

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16580

研究課題名(和文)大腸癌におけるタキサン系抗癌剤への感受性を期待しうる症例の同定に関する検討

研究課題名(英文) Identification of colorectal cancer patients that can be expected to be sensitive to taxane

研究代表者

岡澤 裕 (Okazawa, Yu)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：10794604

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌におけるCHFR遺伝子のDNAメチル化とirinotecanによる大腸癌腫瘍制御率との相関を検討した。また、進行・再発大腸癌に対してirinotecanの治療効果とCHFR遺伝子のDNAメチル化率の相関について検討した。(1) irinotecanによる大腸癌腫瘍制御率には有意差を認めた($p < 0.001$)。(2) irinotecanベースの無増悪生存期間に関しては、高値群で有意に良好であった($p = 0.04$)。

本検討により、原発巣癌組織におけるCHFR-RMVはirinotecanベースの全身化学療法における効果予測因子であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

DNAメチル化は多くの癌腫において癌の発生や進展に重要な役割を果たしていることが報告され、これまでも早期発見や術後再発予測、治療効果のモニタリングにおける有用性について検討がなされてきている。近年、CHFR遺伝子のDNAメチル化が予後予測やirinotecanを用いた全身化学療法の効果予測に有用であると報告されている。今回われわれは、大腸癌原発巣におけるCHFR遺伝子のDNAメチル化がirinotecanベースの全身化学療法の効果予測因子になりうるかについて検討した。

本検討結果により、CHFR-RMVはirinotecanベースの全身化学療法における効果予測因子であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Primary tumor in colorectal cancer patients were investigated. (1) We investigated the correlation between DNA methylation level and inhibition rate by irinotecan (SN-38) using the Histoculture drug response assay (HDRA) method. (2) The correlation between responses to treatment and DNA methylation of the CHFR gene in patients ($n = 47$) where irinotecan-based systemic chemotherapy was performed for advanced/recurrent colorectal cancer was examined. (1) When CHFR-RMV in primary cancer tissue was divided into two groups, i.e., the high group ($n = 28$) and the low group ($n = 18$), significant difference was recognized in the inhibition rate by irinotecan (SN-38) using the HDRA method between the two groups. (2) Progression-free survival from the initiation of irinotecan-based systemic chemotherapy was significantly better in the high CHFR-RMV group ($p = 0.04$). Our current study suggests that CHFR-RMV in primary cancer tissue is a predictor of response in irinotecan-based systemic chemotherapy.

研究分野：エビジェネティクス

キーワード：大腸癌 DNAメチル化 イリノテカン 抗癌剤感受性 HDRA

1. 研究開始当初の背景

大腸癌は、世界全体において男女ともに罹患率および死亡率が高く、本邦においても罹患率、死亡率の高い癌腫の一つである。しかし、近年では全身化学療法や集学的治療の進歩により、進行大腸癌症例における長期成績は改善を認めている。進行・再発大腸癌における現在の標準的治療レジメンは FOLFOX や FOLFIRI 等であり、分子標的薬を組み合わせた奏効率はおよそ約 40-60%と報告され、これらの標準的治療レジメンが有効でない症例も見受けられる。一方、タキサン系抗癌剤は微小管脱重合阻害作用を有し、非小細胞肺癌、乳癌、婦人科器系癌、胃癌、再発・転移食道癌などに適応があるが、大腸癌に対しては認められていない。これは過去に行われた進行・再発大腸癌を対象とした臨床試験において報告された奏効率が低かったためである。しかし、一方で手術検体を用いた ex vivo の抗癌剤感受性試験である Histoculture drug response assay (HDRA)法で大腸癌は Paclitaxel に感受性を示すとの報告も見られる。また、CHFR 遺伝子は癌抑制遺伝子であるとともに有糸分裂チェックポイント遺伝子であり、プロモーター領域の DNA メチル化はタキサン系抗癌剤への感受性を予測するバイオマーカーとして多くの癌腫において報告があるが、申請者らのグループは、大腸癌細胞株を用いた検討において、CHFR 遺伝子プロモーター領域がメチル化されている細胞株ではメチル化されていない細胞株よりも Docetaxel に感受性を示すことを報告した。これらの結果は、大腸癌症例の中にはタキサン系抗癌剤が有効な症例が存在し、その感受性を予測するバイオマーカーとして CHFR 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化との関連性が示唆される。

一方、これまでに、申請者らは大腸癌原発巣手術検体癌部および非癌部における CHFR 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化の測定を行った。その結果、癌部の DNA メチル化率は非癌部よりも有意に高く ($P < 0.0001$)、また、40 例中 14 例 (33%) で DNA メチル化を認めた。したがって、これらの約 3 割の症例はタキサン系抗癌剤への感受性を示す可能性が示唆される。

大腸癌では DNA メチル化が癌の発生や進展に深く関わっていると指摘されているため (23) (24)、大腸癌手術検体における CHFR 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化の解析を行い、さらに HDRA 法による感受性試験を行うことにより、タキサン系抗癌剤への感受性を示しうる症例を同定できる可能性が考えられ、その結果、新たな個別化治療に向けた戦略の構築が期待できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、大腸癌における Checkpoint with Forkhead and Ring Finger Domains (CHFR) 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化解析、およびタキサン系抗癌剤への感受性を HDRA 法を用いて解析し、タキサン系抗癌剤 (Paclitaxel, Docetaxel) への感受性を期待しうる Subpopulation の同定を試みることである。

DNA メチル化は、癌の発生や進行に重要な役割を果たし、これまで多くの遺伝子の DNA メチル化が同定されてきた。さらに近年では、癌抑制遺伝子における DNA メチル化が予後予測や抗癌剤への感受性因子として有用であるとの報告も多く見られている。本研究は、大腸癌原発巣手術検体の CHFR 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化を解析し、HDRA 法を用いたタキサン系抗癌剤への感受性試験結果をエンドポイントとして、CHFR 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化と HDRA 法による感受性試験結果との関連性を解析する。両者における関連性の評価により、タキサン系抗癌剤への感受性が予測することが出来るようになれば、現在の標準的治療レジメン (FOLFOX や FOLFIRI 等) を用いた 1 次、2 次治療に感受性が乏しい症例の中でタキサン系抗癌剤を用いた全身化学療法を施行することが妥当な症例の絞り込みが可能となる。タキサン系抗癌剤は既存の薬剤であり、新規の薬剤開発にかかる費用も必要ないため、本研究は患者の利益のみならず医療経済的にも有益で非常に重要性の高い研究である。

3. 研究の方法

術前大腸内視鏡生検検体から DNA を抽出し、quantitative MSP (qMSP) を用いて CHFR 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化の解析を行う。また、手術検体においても DNA メチル化の解析を行うとともに、HDRA 法による感受性試験を行い、両者における関連性の評価によりタキサン系抗癌剤の効果が期待できる Subpopulation の検討を行う。

4. 研究成果

残念ながら、HDRA 法を用いた検討において、CHFR 遺伝子プロモーター領域の DNA メチル化とタキサン系抗癌剤による感受性試験結果に有意な相関は認められなかった。しかし、同時

に施行したイリノテカンによる感受性試験の結果との間に有意な相関が認められたため、以下のように検討を行った。

【方法】2011年～2018年に当科で手術を施行した大腸癌を対象とし、原発巣癌組織における CHFR 遺伝子の相対的 DNA メチル化レベル(Relative methylation value : RMV)を測定した。(1)原発巣癌組織における DNA メチル化レベルの測定には癌組織から DNA を抽出後に bisulfite 処理を行い、定量的メチル化特異的 PCR(qPCR)で測定した。得られた DNA メチル化レベルの結果と Histoculture drug response assay (HDRA) 法を用いて得られた irinotecan による大腸癌腫瘍制御率との相関を検討した。(2) 前述(1)における結果の validation として、別のコホートを用いて、進行・再発大腸癌に対して irinotecan ベースの全身化学療法(6 コース以上)を施行した症例の治療効果と CHFR 遺伝子の DNA メチル化率の相関について検討した。治療効果の判定は、RECIST ガイドライン v1.1 を用いた。重複癌や多発癌は検討から除外した。

【結果】(1) 原発巣癌組織における CHFR-RMV を高値群(n=28)と低値群(n=18)の2群に分けると、HDRA 法を用いた検討において irinotecan による大腸癌腫瘍制御率には有意差を認めた($p < 0.001$)。(2) CHFR-RMV 高値群(n=26)における最良総合効果は、PR : 7 例(26.9%)、SD : 13 例(50.0%)、PD : 6 例(23.1%)であったのに対して、低値群(n=21)では PR : 2 例(9.5%)、SD : 7 例(33.3%)、PD : 12 例(57.1%)であり、高値群において良好であった。また、術後累積生存率に関しては2群間で差は認めなかったが($p = 0.52$)、irinotecan ベースの全身化学療法開始日からの無増悪生存期間に関しては、高値群で有意に良好であった($p = 0.04$)。

【結論】本検討により、原発巣癌組織における CHFR-RMV は irinotecan ベースの全身化学療法における効果予測因子であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉本起一
2. 発表標題 大腸癌における原発巣および血漿中遊離DNAのCHFR遺伝子メチル化測定の意義
3. 学会等名 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉本起一
2. 発表標題 大腸癌におけるCHFR遺伝子の原発巣癌組織および血漿中遊離DNAメチル化測定の意義
3. 学会等名 JDDW
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉本起一
2. 発表標題 大腸癌における血漿中遊離DNAのCHFR遺伝子メチル化測定の意義
3. 学会等名 日本癌治療学会学術集会
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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	Johns Hopkins University			