

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16296

研究課題名(和文)MDM2を中心とした食道扁平上皮癌の化学放射線抵抗性因子と新規分子標的薬の研究

研究課題名(英文)Research on chemoradioresistance factors and novel molecular-targeted drugs for esophageal squamous cell carcinoma centering on MDM2

研究代表者

岡本 宏史 (Okamoto, Hiroshi)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：80732487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、根治的/術前CRT、術前化学療法の後、切除された食道扁平上皮癌の検体や治療前生検組織を用いて、主に免疫組織化学染色評価と、多くの臨床病理学的因子や臨床経過との比較検討から、Murine double minute 2(MDM2)、p16、p53、Ki-67、phosphorylated mixed lineage kinase domain-like protein (pMLKL)、heme oxygenase-1 (HO-1)、thioredoxin reductase 1 (TXNRD1)等を見出した。実臨床への実装と前方視的臨床研究、集学的治療戦略の構築へとつなげていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により見出された治療効果予測のマーカーを用いて実際の臨床で治療前に予測できるかを前向き臨床試験として検証し、治療戦略へ組み込むことで、治療ガイドラインの策定に寄与し、また、患者にとって無駄な副作用や医療費の負担を軽減することができ、個々の患者に最適な治療法を提供することが可能となる。食道癌患者全体の予後改善にも寄与すると考えられ、医療費削減も含め社会に対する貢献度は大きい。さらなる臨床研究や、分子標的治療への発展、他の(化学)放射線療法を用いる肺癌、子宮頸癌、前立腺癌、脳腫瘍に対する研究への足掛かりになる可能性をも含んでいる。

研究成果の概要(英文)：In this study, using resected specimens of esophageal squamous cell carcinoma after definitive/preoperative CRT or preoperative chemotherapy, and pretreatment biopsy tissues evaluated mainly by immunohistochemical staining, and comparing with clinicopathological factors and clinical course, we identified Murine double minute 2 (MDM2), p16, p53, Ki-67, phosphorylated mixed lineage kinase domain-like protein (pMLKL), heme oxygenase-1 (HO-1), thioredoxin reductase 1 (TXNRD1) and others. It will lead to implementation in actual clinical practice, prospective clinical research, and construction of a multidisciplinary treatment strategy.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道扁平上皮癌 化学放射線抵抗性 Murine double minute 2 Ki-67 p16 HO-1 TXNRD1 pMLKL

1. 研究開始当初の背景

近年、難治性癌の1つである食道扁平上皮癌に対する根治的放射線療法(CRT)は、手術治療、内視鏡治療と並ぶ標準治療の1つとして確立され、我々は手術治療に匹敵すると報告した(Int J Radiat Oncol Biol Phys 2009)。ただし根治的 CRT 後の遺残症例や再発症例の頻度は34.2%~56.0%と高く、予後不良である。根治的 CRT の適応について確立した治療戦略はなく、CRT 感受性(化学療法感受性も含めて)についてその治療効果予測は現在のところ困難を極めており、バイオマーカーを含めた CRT 効果予測因子の解明と治療戦略の確立は喫緊の課題の1つである。

Murine Double Minute 2 (MDM2)は癌抑制遺伝子 p53 を抑制する蛋白として報告され(Cell, 1992)、その後発癌や、放射線抵抗性との関連が報告された(Mol Cancer Res 2004 他)。さらに我々は食道扁平上皮癌での放射線抵抗性との関連を報告してきた(Anticancer Res 2013, BMC Cancer 2015)。最近では MDM2 を癌治療のターゲットとする研究が進んできており(Curr Med Chem 2013 他)、白血病領域では第1相試験も報告された(Clin Cancer Res 2016)。In vitro では頭頸部癌、食道癌で MDM2 阻害剤が放射線感受性を増強させるという報告もされつつある(Br J Cancer 2010, Pathol Oncol Res 2017)。食道扁平上皮癌の CRT 感受性予測と、MDM2 阻害剤による CRT 感受性増強が見込めれば全体の治療戦略に大きく寄与することができる。

2. 研究の目的

本研究により見出された治療効果予測のマーカーを用いて実際の臨床で治療前に予測できるかを前向き臨床試験として検証し、治療戦略へ組み込むことで、治療ガイドラインの策定に寄与し、また、患者にとって無駄な副作用や医療費の負担を軽減することができ、個々の患者に最適な治療法を提供することが可能となる。食道癌患者全体の予後改善にも寄与すると考えられ、医療費削減も含め社会に対する貢献度は大きい。さらなる臨床研究や、分子標的治療への発展、他の(化学)放射線療法を用いる肺癌、子宮頸癌、前立腺癌、脳腫瘍に対する研究への足掛かりになる可能性をも含んでいる。

3. 研究の方法

(1) 扁平上皮癌の根治的 CRT 症例、術前 CRT 手術症例、術前化学療法症例を東北大学病院食道外科グループのデータベースから抽出し、各症例について得られる治療前生検組織標本、手術切除標本を、東北大学病院病理部の協力のもと病理部のデータベースも用いて選択し、既存のパラフィン包埋ブロックより染色用の薄切標本を作製、Hematoxylin - Eosin 染色にて、生検組織標本については改めて腫瘍の分化度、形態の評価、手術摘出標本については、腫瘍の深達度、分化度、浸潤様式、リンパ管侵襲、静脈侵襲、術前治療効果度を評価した。病理医の協力も得て行った。

(2) 生検組織標本と手術摘出標本について、MDM2 を始めとした細胞周期関連因子 (p53, p16, p21, p27, Retinoblastoma protein など)、細胞増殖因子 (Ki-67, PCNA)、上皮成長因子受容体 (EGFR family)、幹細胞マーカー (CD133, CD44 など) あらたに選定した悪性腫瘍でアップレギュレートされていることで知られる nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)と 関連し酸化ストレス耐性を増加させる heme oxygenase-1 (HO-1)、酸化ストレスからがん細胞を防御する酵素の1つとされる thioredoxin reductase 1 (TXNRD1)、細胞死の一つであるネクロトーンシス経路に関与する分子である RIP1, RIP3, MLKL, pMLKL などを加えて免疫組織化学染色を行い、陽性率・もしくはスコアを評価した。

(3) 免疫組織化学染色の結果を、臨床病理学的因子、臨床的治療効果度、組織学的治療効果度、予後などと対比し、進行度を含めた臨床病理学的因子別のサブグループ解析も含め詳細に統計学的相関をみた。

4. 研究成果

(1) 根治的 CRT 症例後救済手術症例(遺残症例群と再発症例群に分類)と術前未治療症例との比較において、術前未治療症例で高分化型の割合が高く、p16 発現の割合が低かった。MDM2 発現は遺残症例群が術前未治療症例より発現が高く、サイクリン D1 発現は術前未治療症例が救済手術症例より高かった。Ki-67 発現は救済手術症例が術前未治療症例より高かった。

(2) サルベージ手術症例群のうち、化学放射線療法前の生検組織は、遺残症例群 20 例、再発症例群 14 例から得られ、その中で治療前生検組織を同様の方法で MDM2 の免疫組織化学染色と評価を行い、切除標本の結果と合わせて比較検討した。切除標本では、遺残症例群は再発症例群より MDM2 陽性率が有意に高かったが、治療前生検組織では、遺残症例群と再発症例群とで有意差は見られなかった。それぞれの症例群で治療前生検組織での MDM2 陽性率と切除標本での陽性率を比べると、治療前後で遺残症例群では有意に増加しており、再発症例群では有意に減少していた。

(3) 術前 CRT 症例 (5Fluorouracil, cisplatin の 2 剤と放射線 30Gy) 52 症例の、治療前生

検組織に対して MDM2、p16、p53、Ki-67 の免疫染色と顕微鏡下での評価を行い、解析した。Overall Survival (OS) に関しては p53 陽性と Ki-67 高値で、Disease Specific Survival (DSS) では MDM2 陰性、p16 陰性、p53 陽性、Ki-67 高値で、Disease Free Survival (DFS) では MDM2 陰性、p16 陰性、p53 陽性で予後が悪い傾向にあった。この中で、特に p16 陰性/p53 陽性/Ki-67 陰性はそれ以外と比べて DFS が、p16 陰性/p53 陰性はそれ以外と比べて DSS および DFS が悪くよく相関した。病理学的治療効果判定はいずれの予後ともよく相関した。

(4) 52 例の術前化学放射線療法症例で検索し、治療前生検での TXNRD1 高発現症例は予後が有意に悪いことが示され、また、治療前後の H0-1 と TXNRD1 の発現差で化学放射線療法の病理学的治療効果を予測できることが分かった。

(5) 術前放射線化学療法後に食道切除をした食道扁平上皮癌の切除検体 69 例について、腫瘍本体とリンパ節転移の免疫染色を行い、いずれもリンパ節転移で原発腫瘍より発現低下していることが判明した。また、H0-1 高発現は術前化学放射線療法への抵抗性と関連し、予後と相関していた。リンパ節転移での H0-1 高発現が術前化学放射線療法を受けた食道癌切除患者の予後予測に有用であることが示された。

(6) 術前化学療法後の手術検体 88 例での検討で、pMLKL 高発現群は 65 歳以下の割合が高く、病理学的深達度 T3 以上の進行癌が多かった。pMLKL の発現と術前化学療法の治療効果には統計的に有意な関連がみられなかった。pMLKL 高発現群は全生存期間、無病生存期間がともに有意に不良であった。多変量解析において、pMLKL 高発現は独立した予後規定因子であった。腫瘍浸潤リンパ球 (Tumor-infiltrating lymphocytes: TILs) との関連については、pMLKL 高発現群で CD8+リンパ球が有意に低く、FOXP3+リンパ球が優位に高かった。MLKL 高発現群では FOXP3+リンパ球が有意に高かった。

(7) 術前化学療法前の生検検体 53 例での検討で、pMLKL 高発現群では術前化学療法の治療効果が低かった。また、MLKL 高発現群でリンパ節転移を有する症例の割合が高かった。pMLKL 高発現群で全生存率が低い傾向がみられたが、有意差に達しなかった。

(8) 組織学的完全走行 (pCR) 症例の生検検体 8 例における検討で、8 例の pCR 症例はすべて pMLKL 低発現であった。非 pCR 群 (n = 53) との比較では、pMLKL の発現頻度は pCR 症例で低かったが統計的有意差に達しなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hiroshi Okamoto*, Yusuke Taniyama, Chiaki Ozawa, Ryohei Ando, Kozue Takahashi, Ryujiro Shinozaki, Michiaki Unno, Takashi Kamei	4. 巻 23
2. 論文標題 Definitive Chemoradiotherapy with Docetaxel, Cisplatin, and 5-Fluorouracil for Advanced Cervical Esophageal Cancer: A Medium-Term Outcome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Pacific Journal of Cancer Prevention	6. 最初と最後の頁 495-499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.31557/APJCP.2022.23.2.495	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 4.Ryujiro Akaishi, Fumiyoshi Fujishima, Hirotaka Ishida, Junichi Tsunokake, Takuro Yamauchi, Yusuke Gokon, Shunsuke Ueki, Toshiaki Fukutomi, Hiroshi Okamoto, Kai Takaya, Chiaki Sato, Yusuke Taniyama1, Tomohiro Nakamura, Naoki Nakaya, Takashi Kamei, Hironobu Sasano	4. 巻 5
2. 論文標題 HO-1 in lymph node metastasis predicted overall survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma receiving neoadjuvant chemoradiation therapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Reports	6. 最初と最後の頁 e1477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cnr2.1477	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shunsuke Ueki, Fumiyoshi Fujishima, Takuro Kumagai, Hirotaka Ishida, Hiroshi Okamoto, Kai Takaya, Chiaki Sato, Yusuke Taniyama, Takashi Kamei, Hironobu Sasano	4. 巻 20
2. 論文標題 GR, Sgk1, and NDRG1 in esophageal squamous cell carcinoma: their correlation with therapeutic outcome of neoadjuvant chemotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-020-6652-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hirotaka Ishida, Atsuko Kasajima, Fumiyoshi Fujishima, Ryujiro Akaishi, Shunsuke Ueki, Yuto Yamazaki, Yoshiaki Onodera, Xin Gao, Hiroshi Okamoto, Yusuke Taniyama, Takashi Kamei, Hironobu Sasano	4. 巻 478
2. 論文標題 p16 in highly malignant esophageal carcinomas: the correlation with clinicopathological factors and human papillomavirus infection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virchows Archiv	6. 最初と最後の頁 219-229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00428-020-02865-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okamoto Hiroshi、Kikuchi Hiroshi、Naganuma Hiroshi、Kamei Takashi	4. 巻 26
2. 論文標題 Multiple carcinosarcomas of the esophagus with adeno-carcinomatous components: A case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 2111~2118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v26.i17.2111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hiroshi Okamoto, Yusuke Taniyama, Tadashi Sakurai, Takahiro Heishi, Jin Teshima, Chiaki Sato, Shota Maruyama, Ken Ito, Yu Onodera, Takuro Konno-Kumagai, Hiroataka Ishida, Takashi Kamei	4. 巻 15
2. 論文標題 Definitive chemoradiotherapy with docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil (DCF-R) for advanced cervical esophageal cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Esophagus	6. 最初と最後の頁 281-285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10388-018-0627-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ryujiro Akaishi, Fumiyoshi Fujishima, Hiroataka Ishida, Junichi Tsunokake, Takuro Yamauchi, Yusuke Gokon, Shunsuke Ueki, Toshiaki Fukutomi, Hiroshi Okamoto, Kai Takaya, Chiaki Sato, Yusuke Taniyama, Tomohiro Nakamura, Naoki Nakaya, Takashi Kamei, Hironobu Sasano	4. 巻 19
2. 論文標題 Correlation between TXNRD1/HO-1 expression and response to neoadjuvant chemoradiation therapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Esophagus	6. 最初と最後の頁 436-443
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10388-021-00904-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 2. Takuro Yamauchi, Fumiyoshi Fujishima, Masatoshi Hashimoto, Junichi Tsunokake, Ryujiro Akaishi, Yusuke Gokon, Shunsuke Ueki, Yohei Ozawa, Toshiaki Fukutomi, Hiroshi Okamoto, Chiaki Sato, Yusuke Taniyama, Tomohiro Nakamura, Naoki Nakaya, Takashi Kamei, Hironobu Sasano	4. 巻 13
2. 論文標題 Necroptosis in Esophageal Squamous Cell Carcinoma: An Independent Prognostic Factor and Its Correlation with Tumor-Infiltrating Lymphocytes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 4473
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13174473	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 植木 俊輔、藤島 史喜、小関 健、福富 俊明、岡本 宏史、高屋 快、佐藤 千晃、谷山 裕亮、亀井 尚、海野 倫明、笹野 公伸
2. 発表標題 食道扁平上皮癌における Sgk1 発現と術前化学療法 治療効果との関連性
3. 学会等名 第121 回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 赤石 隆二郎、藤島 史喜、石田 裕嵩、福富 俊明、岡本 宏史、高屋 快、佐藤 千晃、谷山 裕亮、海野 倫明、亀井 尚、笹野 公伸
2. 発表標題 食道扁平上皮癌における TXNRD1 と HO-1 発現 と術前化学放射線療法抵抗性についての関連
3. 学会等名 第121 回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 植木俊輔、藤島史喜、谷山裕亮、佐藤千晃、高屋快、岡本宏史、福富俊明、熊谷卓朗、亀井尚、笹野公伸
2. 発表標題 食道扁平上皮癌におけるGlucocorticoid receptorおよび関連因子発現の検討
3. 学会等名 第74回日本食道学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山内拓郎、藤島史喜、谷山裕亮、佐藤千晃、高屋快、岡本宏史、福富俊明、及川隆洋、亀井尚、笹野公伸
2. 発表標題 食道扁平上皮癌におけるネクロトーシスの免疫組織学的検討
3. 学会等名 第74回日本食道学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤島史喜、谷山裕亮、佐藤千晃、高屋快、岡本宏史、福富俊明、熊谷卓朗、笹野公伸、亀井尚
2. 発表標題 Keap1-Nrf2制御系及びp62と化学放射線療法抵抗性についての検討
3. 学会等名 第74回日本食道学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡本宏史、谷山裕亮、櫻井直、日景允、佐藤千晃、高屋快、今野卓朗、氏家直人、海野倫明、亀井尚
2. 発表標題 当科における頸部食道癌の治療成績の検討
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡本宏史、谷山裕亮、櫻井直、日景允、佐藤千晃、高屋快、今野卓朗、氏家直人、小関健、亀井尚
2. 発表標題 当科の食道癌術後再発に対する治療の検討
3. 学会等名 第73回日本食道学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡本 宏史、谷山 裕亮、櫻井 直、瓶子 隆弘、佐藤 千晃、高屋 快、伊東 賢、小野寺 優、今野 卓朗、亀井 尚
2. 発表標題 進行頸部食道癌に対するDocetaxel/CDDP/5-FU併用放射線療法(DCF-R)～FP-Rとの比較から
3. 学会等名 第72回日本食道学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Okamoto, Yusuke Taniyama, Tadashi Sakurai, Makoto Hikage, Jin Teshima, Chiaki Sato, Kai Takaya, Shota Maruyama, Ken Ito, Yu Onodera, Hirotaka Ishida, Takuro Konno, Takashi Kamei
2. 発表標題 Definitive chemoradiotherapy with docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil (DCF-R) for advanced cervical esophageal cancer
3. 学会等名 16th World Congress of the International society of diseases of the esophagus (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡本宏史、谷山 裕亮、佐藤 千晃、小澤洋平、小関健、堀江悠太、赤石隆二郎、山内拓郎、福富俊明、亀井尚
2. 発表標題 進行頸部食道癌に対するDocetaxel, CDDP, 5-FU併用放射線療法
3. 学会等名 第76回日本食道学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本宏史、谷山 裕亮、佐藤千晃、小澤洋平、石田裕嵩、小関健、山内拓郎、加藤伸史、亀井 尚
2. 発表標題 当院におけるT3b胸部食道癌に対する根治的化学放射線療法とサルベージ治療
3. 学会等名 第75回日本胸部外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroshi Okamoto, Yusuke Taniyama, Chiaki Sato, Toshiaki Fukutomi, Yohei Ozawa, Ken Koseki, Yuta Horie, Ryujiro Akaishi, Takuro Yamauchi, Takashi Kamei
2. 発表標題 Definitive chemoradiotherapy with docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil for advanced cervical esophageal cancer
3. 学会等名 18th World Congress of the International society of diseases of the esophagus (国際学会)
4. 発表年 2022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
---------	---------