

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07787

研究課題名（和文）逐次療法適応となる進行再発大腸癌の分子生物学的特徴の探索

研究課題名（英文）Exploration of the Molecular Biological Characteristics of Advanced Colorectal Cancer Suitable for Sequential Therapy

研究代表者

山口 佳之（Yamaguchi, Yoshiyuki）

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：10230377

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）：本研究ではMGMTメチル化がpStage III大腸癌の再発予測マーカーになる可能性が示唆されたが、切除不能大腸癌の化学療法に対する予後・効果予測マーカーにはなり得なかった。この矛盾する結果は、MGMTメチル化を持つ腫瘍では化学療法により免疫原性が増し抗腫瘍効果が増強される一方で、癌が進行した場合は免疫疲弊が起きているという仮説で説明可能である。今後のMutational Signature解析により、MGMTメチル化を有する腫瘍で化学療法後に明らかにG to A転換の増加が認められた場合、後治療で免疫チェックポイント阻害剤が奏功する可能性が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、MGMTメチル化がpStage III大腸癌の再発予測マーカーとなる可能性を示し、個々の患者の再発リスクを早期に評価する新たな道筋を開いた。しかし、切除不能大腸癌の化学療法に対する予後・効果予測マーカーとはならず、この矛盾が免疫疲弊と関連する可能性を示唆。これは癌治療への新規アプローチを促進し、特にMGMTメチル化を有する腫瘍における化学療法後の免疫チェックポイント阻害剤の有効性を予見する新たな可能性も示唆している。

研究成果の概要（英文）：In our investigation, we propose that MGMT methylation has potential to be a predictive biomarker for recurrence in pStage III colorectal cancer, but not as a prognostic or therapeutic effectiveness marker for unresectable colorectal cancer under chemotherapy. This contradiction is explained by our hypothesis that, while tumors with MGMT methylation experience heightened immunogenicity and augmented antitumor effects under chemotherapy, advanced stages of the cancer may induce an immune exhaustion. Upcoming Mutational Signature analyses will probe further into this observation, specifically whether a noticeable increase in G to A transitions post-chemotherapy in MGMT-methylated tumors may indicate a potential efficacy of subsequent immune checkpoint inhibitor treatments.

研究分野：消化器がん

キーワード：大腸がん 化学療法 逐次治療 オキサリプラチン MGMT メチル化 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸癌治療ガイドライン 2016 年度版にあるように、切除不能進行再発大腸癌に対する治療の第一選択は化学療法である。基本的には「強力な治療が適応になる患者」と「強力な治療が適応にならない患者」の 2 群に分類し、「強力な治療が適応になる患者」では、殺細胞剤 2 剤併用(併用療法)に分子標的薬が基本となる。その一方で、「強力な治療が適応にならない患者」はフッ化ピリミジン系薬剤単剤に Bevacizumab (BEV; 抗 VEGF 抗体) という副作用の少ないレジメンが適応となる。この「フッ化ピリミジン系薬剤単剤 + BEV」療法は「強力な治療が適応になる患者」であっても、腫瘍進行が緩徐と判断される場合や重篤な副作用の発生を好まない場合に、適応であることも大腸癌治療ガイドラインには明記されている。海外では、分子標的薬が臨床で使用可能となる前から、フッ化ピリミジン系薬剤単剤から治療を開始し増悪後にオキサリプラチンやイリノテカンを加えるといった逐次療法は、複数の第 3 相臨床試験にて、有害事象を軽減しつつ併用療法と同等の治療成績が得られる治療法であることが示されている。しかしながら、その施行率は低い。その理由としては、どの薬剤にも不応であり急激に悪化する症例が少なからず存在するため、この逐次療法がどの患者に適応となるか、または、実施するべきかが明確に出来ないことが挙げられる。

2. 研究の目的

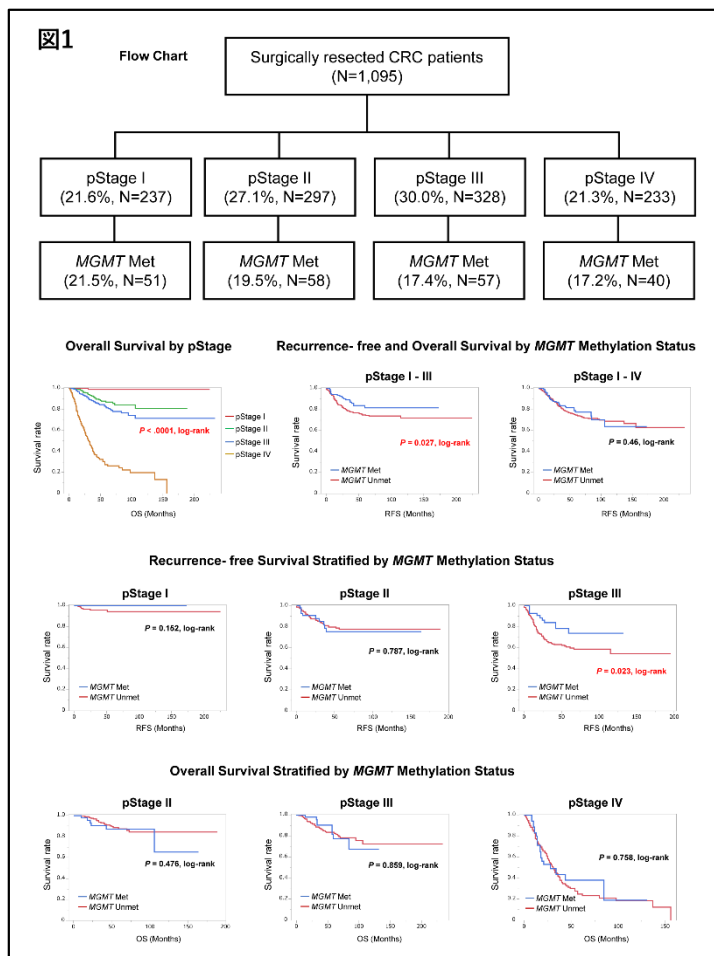
本研究では、フッ化ピリミジン系薬剤単剤 + BEV 療法の適応となる患者群を選別するバイオマーカーの開発を試みる。

3. 研究の方法

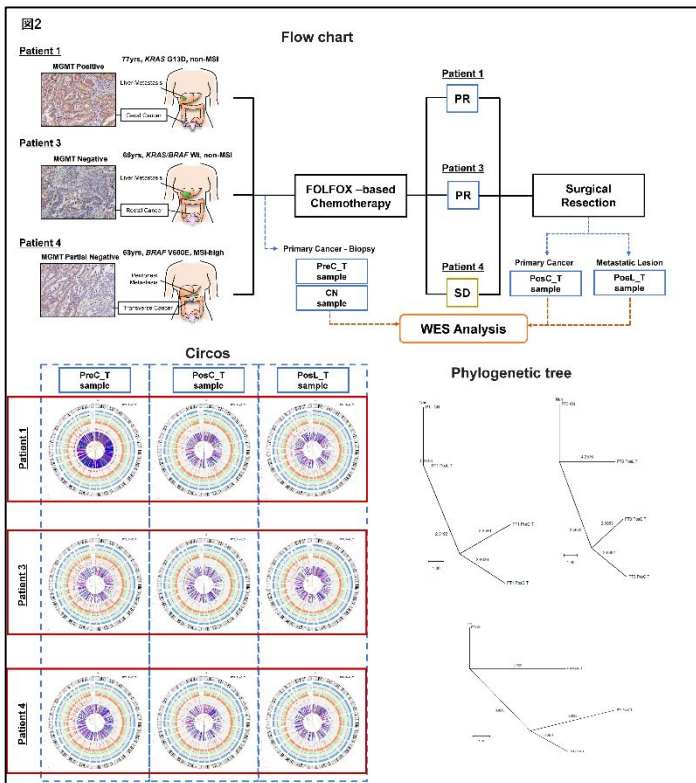
- (1) 大腸癌組織の MGMT promoter メチル化解析と術後再発や予後の検討
- (2) MGMT promoter メチル化症例の化学療法施行前原発巣生検試料と化学療法施行後切除原発巣組織を用いた次世代シーケンサーによる解析
- (3) C-cubed study 参加症例の MGMT promoter メチル化解析、neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) 臨床病理学的因子による、大腸癌進展速度(進展緩徐か否か)の推定が可能となる大腸癌サブタイプの同定

4. 研究成果

(1) 1,095 例の大腸癌患者から得られた大腸癌組織のメチル化解析結果を行った(図 1)。本後方視解析では、pStage I - III 全体において、MGMT メチル化を有する大腸癌は術後再発が少ない傾向を認めたと、pStage I - IV 全体における予後解析では予後の改善を示さなかった。そこで、各 Stage に分けて解析を行ったところ、pStage III において統計的有意差を持って、MGMT メチル化を有する大腸癌は術後再発が少ない傾向を示した。しかしながら、予後を改善するまでには至らなかった。すなわち、MGMT メチル化を有する大腸癌は再発リスクの高い術後補助化学療法を必要とする pStage III では、術後再発が少ない傾向を有するが、予後に関しては、各 Stage を通じて改善させるまでには至っていないことが示された。本研究で解析されている pStage III 症例はほぼ全てに術後補助化学療法が施行されているため、MGMT が抑制されている大腸癌 (= MGMT メチル化を有する大腸癌) では、術後補助化学療法(フッ化ピリミジン系薬剤 + オキサリプラチン)により、G to A transition が多く誘導され、その結果、腫瘍の免疫原性が高まり、免疫応答による抗腫瘍効果が誘導された可能性があると考えられた。



(2) フッ化ピリミジン系薬剤 ± オキサリプラチンが *MGMT* メチル化を有する大腸癌にどのような影響を及ぼすかを検証するために、切除不能 *MGMT* メチル化 (+ *MGMT* 陰性) 大腸癌にフッ化ピリミジン系薬剤 + オキサリプラチンを含む化学療法を施行し、奏功が得られた後に、原発巣及び転

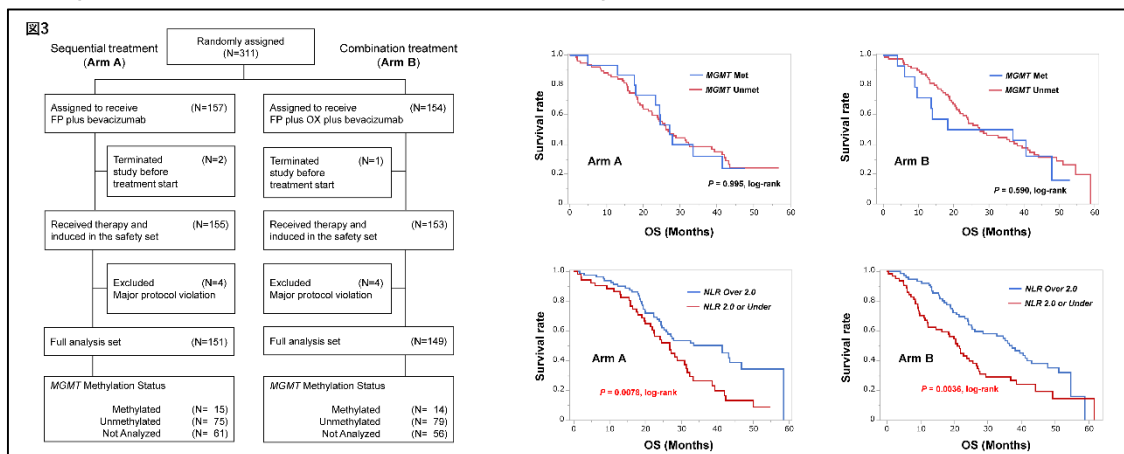


移巣の切除を行い、大腸正常粘膜、化学療法施行前後の原発巣、化学療法施行後の転移巣から得られた DNA を用い、NGS を用いて全エクソン解析を行った(図2、コントロールとして、*MGMT* 陽性大腸癌症例対しても同様の治療を行い、組織を採取し同様の解析を行った)。

Circos による解析では、化学療法前後において染色体異常の変化は認められなかったが、系統樹形図 (Phylogenetic tree) による解析では、正常粘膜 (CN) を基準にすると、興味深いことに、MSI-high ではない大腸癌では、化学療法前の大腸癌原発巣が最も CN からかけ離れていたのに対し、MSI-high 大腸癌では、化学療法後の原発巣・転移巣が CN から遠くなっていた。これは、MSI-high ではない大腸癌では、化学療法が奏功することにより、Intratumor heterogeneity の減少が認められたのに対し、MSI-high 大腸癌では、化学療法奏功時に変異の蓄積が進んでいることが示唆されたことになる。 *MGMT* 発現の有無により G to A

transitions に差を認めるかどうかの検証は現在、Mutational Signature 解析を行っている最中である。

(3) C-cubed study 参加症例を対象に、*MGMT* メチル化と NLR に着目し予後解析を行った(図3)。C-cubed study の primary endpoint については Inada R et al (EJC 2022) にて報告を行っている。尚、今回の解析結果は OS の update データを元としている。(1) で示した結果と同じように、化学療法施行患者においても *MGMT* メチル化は予後予測や効果予測の Biomarker にはなり得ない結果を得た。ただ、化学療法を施行することにより、*MGMT* メチル化を有する腫瘍に G to A transitions が誘導される場合は、後治療で免疫チェックポイント阻害剤が奏功する可能性を有する (Crisafulli G et al. Cancer Discov 2022)。



結論として、今回の解析では、*MGMT* メチル化は pStage III においては (補助化学療法の) 再発予測 biomarker となる可能性が示唆された。しかしながら、切除不能大腸癌患者の化学療法の効果や予後を予測する biomarker となり得なかった。この矛盾と思われる結果は、*MGMT* メチル化を有する腫瘍に G to A transitions が誘導された場合においてのみ、矛盾しない結果となり得る (補助化学療法の際には変異の増加により免疫原性が高まることによる抗腫瘍効果の増強の結果で有り、切除不能大腸癌の化学療法では、免疫原性が高まるが、免疫疲弊を起こしているため予後の改善に至らない可能性がある)。今後は、Mutational Signature 解析を行い、明らかに *MGMT* メチル化を有する腫瘍に G to A transitions が誘導される場合は、後治療で免疫チェックポイント阻害剤の効果を検証する治験を行う基盤となり得ることを検証する予定である。

## 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 8件）

1. 著者名 Ryo Inada, Takeshi Nagasaka, Mototsugu Shimokawa, Hitoshi Ojima, Shingo Noura, Hiroaki Tanioka, Yoshinori Munemoto, Yasuhiro Shimada, Keiichiro Ishibashi, Yoshiaki Shindo, Hideyuki Mishima, Masasumi Okajima, Yoshiyuki Yamaguchi	4. 巻 169
2. 論文標題 Phase 3 trial of sequential versus combination treatment in colorectal cancer: The C-cubed study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 166-178
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejca.2022.04.009	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 Fumitaka Taniguchi, Akihiro Nyuya, Toshiaki Toshima, Kazuya Yasui, Yoshiko Mori, Makoto Okawaki, Hiroyuki Kishimoto, Yuzo Umeda, Toshiyoshi Fujiwara, Hiroaki Tanioka, Yoshiyuki Yamaguchi, Ajay Goel, Takeshi Nagasaka	4. 巻 7
2. 論文標題 Concordance of acquired mutations between metastatic lesions and liquid biopsy in metastatic colorectal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Future Sci OA	6. 最初と最後の頁 FS0757
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2144/fsoa-2021-0059	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 akashi Kawai, Akihiro Nyuya, Yoshiko Mori, Takehiro Tanaka, Hiroaki Tanioka, Kazuya Yasui, Toshiaki Toshima, Fumitaka Taniguchi, Kunitoshi Shigeyasu, Yuzo Umeda, Toshiyoshi Fujiwara, Makoto Okawaki, Yoshiyuki Yamaguchi, Ajay Goel, Takeshi Nagasaka	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical and epigenetic features of colorectal cancer patients with somatic POLE proofreading mutations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Epigenetics	6. 最初と最後の頁 117
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13148-021-01104-7	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 Yamaguchi, Y. Katata, Y. Sano, F. Tanioka, H. Okawaki, M. Yamamura, M. Nagasaka, T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Adoptive immunotherapy for gastric cancer using zoledronate-activated killer cells: A prospective observational study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mco.2020.2125	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 Shinozaki, K. Yamada, T. Nasu, J. Matsumoto, T. Yuasa, Y. Shiraishi, T. Nagano, H. Moriyama, I. Fujiwara, T. Miguchi, M. Yoshida, R. Nozaka, K. Tanioka, H. Nagasaka, T. Kurisu, Y. Kobayashi, M. Tsuchihashi, K. Inukai, M. Kikuchi, T. Nishina, T.	4. 巻 26
2. 論文標題 A phase II study of FOLFOXIRI plus bevacizumab as initial chemotherapy for patients with untreated metastatic colorectal cancer: TRICC1414 (BeTRI)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 399-408
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01811-w	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 Shigeyasu, K. Toden, S. Ozawa, T. Matsuyama, T. Nagasaka, T. Ishikawa, T. Sahoo, D. Ghosh, P. Uetake, H. Fujiwara, T. Goel, A.	4. 巻 1
2. 論文標題 The PVT1 lncRNA is a novel epigenetic enhancer of MYC, and a promising risk-stratification biomarker in colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Cancer	6. 最初と最後の頁 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12943-020-01277-4	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 Kubota, N. Taniguchi, F. Nyuya, A. Umeda, Y. Mori, Y. Fujiwara, T. Tanioka, H. Tsuruta, A. Yamaguchi, Y. Nagasaka, T.	4. 巻 19
2. 論文標題 Upregulation of microRNA-31 is associated with poor prognosis in patients with advanced colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncol Lett	6. 最初と最後の頁 2685-2694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.11365	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 Kubota Nobuhito, Taniguchi Fumitaka, Nyuya Akihiro, Umeda Yuzo, Mori Yoshiko, Fujiwara Toshiyoshi, Tanioka Hiroaki, Tsuruta Atsushi, Yamaguchi Yoshiyuki, Nagasaka Takeshi	4. 巻 19 (4)
2. 論文標題 Upregulation of microRNA?31 is associated with poor prognosis in patients with advanced colorectal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 2685-2694
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.11365	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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 谷岡洋亮, 永坂岳司, 堅田洋佑, 岡脇誠, 山村真宏, 山口佳之
2. 発表標題 胃癌ニボルマブ投与による末梢血 PD1CD8 陽性 T リンパ球変化は効果予測となりうる
3. 学会等名 第 59 回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永坂岳司, 入谷光洋, 谷口文崇, 戸嶋俊明, 安井和也, 母里淑子, 榎田祐三, 岸本浩行, 河合毅, 山口佳之
2. 発表標題 抗EGFR抗体によるRAS野生型大腸癌獲得変異に対する検討
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永坂岳司, 入谷光洋, 鶴田淳, 渡邊裕策, 峯田修明, 母里淑子, 重安邦俊, 榎田祐三, 岸本浩行, 上野富雄, 山口佳之
2. 発表標題 Genetic 変異情報と Epigenetic 変異情報の融合による新機軸大腸癌 Precision Medicine
3. 学会等名 第74回日本大腸肛門病学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Nagasaka, R. Inada, H. Ojima, S. Noura, H. Tanioka, Y. Munemoto, Y. Shimada, K. Ishibashi, Y. Shindo, Y. Kagawa, A. Tomibayashi, K. Okamoto, A. Tsuji, Y. Tsuji, S. Yamaguchi, A. SAWAKI, H. Mishima, M. Shimokawa, M. Okajima, Y. Yamaguchi
2. 発表標題 Randomized phase III study of sequential treatment with capecitabine or 5-fluorouracil (FP) plus bevacizumab (BEV) followed by the addition with oxaliplatin (OX) versus initial combination with OX+FP+ BEV in the first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer: The C-cubed study
3. 学会等名 ESMO Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口佳之
2. 発表標題 がん免疫療法とはー免疫チェックポイント阻害剤によるがん治療の変革
3. 学会等名 第60回日本人間ドック学会学術大会
4. 発表年 2019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	永坂 岳司 (NAGASAKA TAKESHI)  (30452569)	川崎医科大学・医学部・准教授  (35303)	
研究分担者	谷岡 洋亮 (TANIOKA HIROAKI)  (40775491)	川崎医科大学・医学部・講師  (35303)	
研究分担者	堅田 洋佑 (KATATA YOSUKE)  (20716881)	川崎医科大学・医学部・助教  (35303)	

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
---------	---------