

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2021

課題番号：18H06156・19K21267

研究課題名（和文）血中マイクロRNAの測定による食道癌化学放射線療法の治療効果予測に関する研究

研究課題名（英文）prediction of treatment effect of chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma by circulating microRNA

研究代表者

武田 一也（Takeda, Kazuya）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：80824177

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：食道扁平上皮癌に対する化学放射線治療は有効な治療方法であるが、治療開始前に治療効果を予測することは困難である。本研究では治療前の患者12名より血液を採取してその中に含まれるマイクロRNAを測定し、その後の再発の有無との関係を検討した。検討した2632種のマイクロRNAのうち26種において、再発の有無で血中発現量に違いがみられた。特にこのうち、再発患者で低値であったmiR-107については、他のがんで放射線治療への感受性を高める影響が知られており、今後の治療ターゲットとなる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、miR-107をはじめ数種類の血中マイクロRNAが、食道扁平上皮癌に対する化学放射線治療の効果の予測に有効である可能性を示した。この知見がより大規模な研究で確認されれば、治療開始前に化学放射線治療の効果予測し、他の手術や抗がん剤治療との治療選択において患者や医師の意思決定の助けとなることが期待される。また、今回同定されたマイクロRNAに対する介入治療を開発することで、化学放射線治療の治療効果を高められることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Chemoradiotherapy is one of treatment strategies for esophageal squamous cell carcinoma. There has been no established method for predicting treatment response to chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma. We collected serum samples from 12 patients and measured serum concentration of microRNAs. We found 26 of 2632 measured microRNAs showed difference in serum concentration. Of those, miR-107 has been known to act as a radiosensitizer in different types of cancers. We found that miR-107 is a candidate of treatment target.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：食道扁平上皮癌 化学放射線療法 血中マイクロRNA 治療効果予測

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦では ~ 期食道癌に対する治療において、手術不能例や拒否例に対する根治治療として化学放射線療法が利用されている。国内の第 相臨床試験である JCOG9906 試験においては、~ 期切除可能食道癌患者に対する化学放射線療法において、36.8%の5年生存率が報告されているほか、当院での検討では、化学放射線療法と治療後再発時の救済手術を組み合わせることで手術を上回る生存率を達成できる可能性が示されている (Ariga et al., IJROBP 2009,)。また、欧米では術前療法として化学放射線療法を行った後手術を行うことが標準治療となっているが、これらの患者において、手術標本において悪性細胞が認められない完全寛解を呈する症例が一定の割合で存在することが知られている。しかしこの治療反応性は個人差が大きく、照射線量 50Gy 程度で病理学的完全寛解が得られる症例が存在する一方、60Gy を超える高線量投与でも病変が残存する症例が存在することが知られているが、現時点では治療効果予測は難しい。

これらのことから、~ 期食道癌に対し化学放射線療法を行う患者において、治療開始後早期 (照射線量 20Gy 程度) において最終時点での治療効果を予測することができれば、適切な照射総線量の決定や早期の救済手術の適用判断など、治療方針を患者ごとに最適化する助けとなることが考えられる。しかし現時点で有効な効果予測マーカーは確立されていない。マイクロ RNA (以下 miRNA) は 21~25 塩基からなる短鎖の RNA で、細胞内の転写翻訳やタンパク分解の制御を通じて細胞の DNA 修復能や治療抵抗性に関与することが近年解明されてきている。この miRNA は細胞から遊離して血液等の体液中にも検出されることが知られており、近年では低侵襲な診断方法として悪性腫瘍の存在診断や質的診断にも応用されている。しかし化学放射線療法による治療を受けた食道扁平上皮癌の症例においては、これまで血中遊離 miRNA について検討した報告は存在せず、その有用性は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、化学放射線療法により治療を行う ~ 期食道扁平上皮癌症例において、治療前及び治療開始後早期の血中遊離 miRNA を測定し、治療開始後早期 (開始後約 2 週間) の時点で最終的な腫瘍縮小効果を予測するための低侵襲かつ客観的なマーカーを探索することを目的とした。

本研究の独自性として、まず化学放射線療法を行う食道扁平上皮癌症例を対象とした研究であることが挙げられる。食道扁平上皮癌症例では治療感受性を予測することが適切な治療法の選択や照射線量の低減に有効と考えられるが、血中遊離 miRNA を食道扁平上皮癌の治療感受性の予測に利用した報告はこれまでに存在していない。

また、化学放射線療法を行う患者群においてはこれまで腫瘍の生物学的特性は生検検体の検討や画像所見から推定するしかなかったが、本研究により血中遊離 miRNA による治療感受性の予測の有効性が示された場合、新規かつ低侵襲の補助診断手法が確立される事となる。

3. 研究の方法

患者血清検体中の miRNA を、DNA チップを用いて網羅的に検出および定量し、化学放射線治療への感受性と関連する可能性のある候補を探索した。具体的には当施設の倫理委員会の承認を得た後に根治的放射線療法を受ける ~ 期食道扁平上皮癌患者 12 例を登録し、治療開始前及び治療開始後 2 週間時点での血清検体を採取した。この後観察期間を置き、観察時点での再発の有無により患者を効果良好群と効果不良群の 2 群に分けて miRNA の測定および統計解析をおこない、効果良好群と不良群を識別する miRNA マーカーの候補を探索した。

本研究ではこれに加えて、食道扁平上皮癌の細胞株においてミミックベクターを用いた miRNA の阻害による放射線感受性の検討を行う予定であったが、新型コロナウイルス感染症の流行に伴い前記の患者血清サンプルの収集進行が遅延したり、研究遂行体制の変化が生じたため、細胞実験の施行は断念した。

4. 研究成果

患者 12 名より同意を得て血清サンプルを採取し、その後の観察における再発の有無を確認したうえで、血清中マイクロ RNA の測定を行った。その結果、化学放射線治療を受けた食道扁平上皮癌患者のうち、再発を認めた患者と再発を有さなかった患者において、血清中のマイクロ RNA の発現プロファイルが異なることを明らかにした。解析を行った 2632 種のマイクロ RNA のうち、治療開始前の血清サンプルにおいて再発群・無再発群で 8 倍以上の発現濃度差を認めたマイクロ RNA が 26 種 (再発群で高発現が 5 種、無再発群で高発現が 21 種) 存在した。COVID-19 感染症流行に伴い、患者登録の進行遅延や研究設備使用の困難、研究エフォート捻出の困難などがあり、当初予定していた細胞実験を用いた個々のマイクロ RNA の検証は行うことができなかった。このため、代替として文献検索に基づく検討を行った。前述の 26 種のマイクロ RNA のうち、腫瘍学に関する既存の報告が存在するものが 15 種見られた。特に miR-107 では他の癌種で放射線感受性を高める報告があり、本研究での知見と合致がみられたことから今後の研究対象として有望であると考えられた。また miR-214-5p および miR-3612 については食道扁平上皮癌における腫瘍抑制因子としての報告がみられ、本研究でも再発群での低発現が認められたことから、今後のさらなる検討を要すると考えられた。以上の研究成果を日本放射線腫瘍学会第 34 回学術

大会で報告した（図1）。今後追加の検討結果と合わせて論文発表を予定している。

- ベースラインで再発群・無再発群で8倍以上の濃度差を有するmiRNAが26種認められた
- このうち食道扁平上皮癌もしくは放射線治療に関する知見が存在するmiRNAが3つ存在した

再発群で高発現	無再発群で高発現		
miR-186-3p	miR-20b-5p	miR-1267	miR-4439
miR-1251-3p	miR-103a-3p	miR-1287-5p	miR-4491
miR-4266	miR-107	miR-1911-3p	miR-4694-3p
miR-4330	miR-199b-5p	miR-3120-5p	miR-5194
miR-10525-3p	miR-214-5p	miR-3612	miR-10397-5p
	miR-598-3p	miR-4303	miR-12124
	miR-769-5p	miR-4317	miR-12127

図1：再発群・無再発群で濃度差が認められたmiRNA（日本放射線腫瘍学会第34回学術大会での発表内容を一部改変）

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 0件）

1. 発表者名 武田 一也、梅澤 玲、山本 貴也、石川 陽二郎、高橋 紀善、鈴木 友、岸田 桂太、寺村 聡司、細井 義夫、神宮 啓一
2. 発表標題 食道扁平上皮癌化学放射線治療症例における血清中遊離マイクロRNAの解析
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第34回学術大会
4. 発表年 2021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
---------	---------