

機関番号：37116

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591582

研究課題名(和文) 生物学的特性からみた食道扁平上皮癌の新しい治療方針の確立

研究課題名(英文) Establishment of novel treatment strategy based on the biological characteristics of esophageal squamous cell carcinoma.

研究代表者

花桐 武志 (HANAGIRI TAKESHI)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30299614

研究成果の概要(和文)：本研究では、食道癌切除標本における topoisomerase-I、topoisomerase-II α 、HLA class I 分子などの治療効果予測因子の発現について解析し、食道癌の新たな治療体系の構築を目指していく事を目的とした。食道癌における topoisomerase-I 発現率は62%であり、陽性例と陰性例の予後には差を認めなかった。topoisomerase-II α の発現率は55%であり、陽性例において予後良好の傾向にあった。HLA class Iについて正常発現6.9%、低発現78.3%、重度低発現3.4%であり、正常発現例において予後良好の傾向にあった。

研究成果の概要(英文)：In this study, expression of topoisomerase-I, topoisomerase-II α , and HLA class I was investigated for establishment of novel treatment strategy for patients with esophageal cancer. The positive expression of topoisomerase-I was identified in 62% of the patients, and the expression of topoisomerase-I was not prognostic factor. The positive expression of topoisomerase-II α was observed in 55% of the patients, and the patients with positive expression of topoisomerase-II α had a tendency of favorable prognosis. The positive expression of HLA class I showed a tendency of favorable prognosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：食道癌、扁平上皮癌、ERalpha、ERbeta、抗腫瘍効果、topoisomerase-I
topoisomerase-II、HLA

1. 研究開始当初の背景

食道扁平上皮癌は最も予後の不良な悪性腫瘍の一つであり、診断技術、集学的治療レベルの向上に伴い、その予後は改善傾向にあるものの、いまだに5年生存率は50%内外である。化学療法、放射線治療に比較的高い感受性を示すものの、その治療効果には限界が

あり、化学療法、放射線治療以外の有効な治療方法の開発が必要不可欠である。

各種臓器の癌の発生頻度には性差が存在することが多い。食道癌や肺癌に見られる男女差は、飲酒、喫煙といった社会的、環境的な因子によるものが大きいと一般的には考えられてきている。産業医科大学において

1995年から2005年までの最近10年間に切除再建を行った食道扁平上皮癌73例においては男性66例、女性7例でその比は9:1であり、対象症例数が少ないために有意差は認めないまでも女性症例の5年生存率(100%)は男性のそれ(34.7%)に比較して明らかに良好である傾向が認められる。

食道扁平上皮癌の予後は女性で男性よりも有意に良好であることが報告された。これらの研究結果より、エストロゲンレセプターが食道扁平上皮癌の発生および進展に何らかのかかわりを有しているであろうことが予想されてきた。我々は、食道扁平上皮癌における、エストロゲンレセプターの subtype であるエストロゲンレセプター α (ER α)、エストロゲンレセプター β (ER β) の発現を免疫組織化学的に証明し、ER β 発現が食道癌の予後不良因子であることを明らかにしてきた。

現在のところ、食道癌に対する抗癌剤の治療は2nd line が効能を失った場合、次の治療選択がない。また、topoisomerase-I、topoisomerase-II α の発現と CPT-11 の抗腫瘍効果との関係に関する報告はなされていない。本研究は、食道扁平上皮癌に対する Evidence based medicine に基いた治療体系確立に寄与すると考えられる。

2. 研究の目的

CPT-11 は topoisomerase-I を不活化し、癌細胞 DNA 複製阻害により抗力を発揮する anti-tumor agent である。従って、癌腫の topoisomerase-I 活性と CPT-11 の抗腫瘍効果は何らかの関係があることが予想される。食道扁平上皮癌に対しても CPT-11 が抗腫瘍効果を発揮することは食道癌細胞株を用いた基礎的研究で証明されている。一方、topoisomerase-II α は、アントラサイクリン系抗がん剤の標的酵素であり、topoisomerase-II α の遺伝子が増幅している患者は、化学療法の効果が高い可能性が乳癌において明らかになっている。また HLA class I 分子の発現は、特異的免疫療法の効果予測因子として重要である。本研究において、食道癌切除後のサイトカインの解析、食道癌切除標本における topoisomerase-I、topoisomerase-II α 、HLA class I 分子などの因子の発現について注目し、食道癌の新たな治療体系の構築を目指していく。

3. 研究の方法

(1) 食道扁平上皮癌における女性ホルモンの受容体の評価

食道癌細胞の RNA レベルでのエストロゲン

レセプター α 、エストロゲンレセプター β の発現を RT-PCR で評価する。

(2) 食道癌術後の胸水中のサイトカインの動態と急性肺障害の関連

食道癌術後の胸水中のサイトカイン(IL-1 β 、IL-6、TNF-a)を ELISA 法に測定し、急性肺障害との関連を検討する。

(3) 食道癌における topoisomerase-I 阻害剤 CPT-11 療法の確立 - DNA topoisomerase-I の発現解析

(4) 食道癌におけるアントラサイクリン系抗癌剤の使用の可能性 - DNA topoisomerase-II α の発現解析

(5) 食道癌における免疫療法の可能性 - HLA class I 分子の発現解析

4. 研究成果

(1) 食道癌細胞の RNA レベルでの ER α 、ER β の発現を検討するため食道癌細胞株 (TE series) を入手し、細胞培養を開始した。また、保存され使用可能な食道癌切除標本の凍結切片を選別し、食道癌細胞株の培養および食道癌切除標本の凍結切片から RNA 抽出および発現の検討を行うにあたり real time RT-PCR 法の primer 設定や諸条件と antibody の blotting 設定条件を調整した。

(2) 食道癌切除後のサイトカインの解析を行い、IL-1 β 、IL-6 が手術後の急性肺障害の指標になることを明らかにした。

(3) 食道癌における topoisomerase-I の発現解析を行い、CPT-11 を用いた化学療法の可能性を検討した。1997年1月から2007年12月までの食道扁平上皮癌切除症例48例のうち、解析可能な検体が存在した29例(男性26例、女性3例)を対象とし、topoisomerase-I の発現を免疫組織学的染色法にて解析した。結果は、陽性例は29例中18例で陽性率62%であった。陽性率は男性62%、女性67%であった。陰性例と陽性例の分化度をみると、陰性例のうち、高分化は1例(9%)、中・低分化は10例(91%)であり、陽性例では、高分化0例、中・低分化6例(100%)で両群間に有意差を認めなかった(p=0.19)。t 因子別では陰性例で t1: 5例(45%)、t2: 1例(9%)、t3: 3例(27%)、t4: 2例(18%)、陽性例で t1: 4例(22%)、t2: 1例(6%)、t3: 12例(67%)、t4: 1例(6%)であり、両群間に有意差は認めなかった。病理病期別では陰性例で0期: 1例(9%)、I期: 1例(9%)、II期: 5例(45%)、III期: 1例(9%)、IV期: 3例(27%)、陽性例で0期: 0例、I期: 2例(11%)、II期: 6例(33%)、III期: 8例(44%)、IV期: 2例(11%)であり、両群間に各臨床因子との有意な相関は認めな

った。発現別の5年生存率は、陰性43.6%、陽性36.7%であり、陽性例と陰性例において予後の差を認めなかった。

(4) アンスラサイクリン系の抗癌剤の感受性の指標となる Topoisomerase II alpha の発現の解析を免疫組織学的染色法にて行った。抗体は、TOP-II. mouse monoclonal antibody (Novocastra)を用い、判定は50%以上の陽性細胞を認めたものを陽性、50%未満を陰性とした。topoisomerase-II alpha の発現の陽性例は29例中16例で陽性率55%であった。topoisomerase-II α の発現の陽性例は29例中16例で陽性率55%であった。陰性例と陽性例別に分化度を検討すると、陰性例のうち、高・中分化は10例(77%)、低分化は3例(23%)であり、陽性例では、高・中分化12例(75%)、低分化4例(25%)で両群間に有意差を認めなかった。また、t因子別に検討すると陰性例ではt1: 4例(31%)、t2: 2例(15%)、t3: 5例(38%)、t4: 2例(15%)で、陽性例ではt1: 5例(31%)、t2: 0例(0%)、t3: 10例(62%)、t4: 1例(6%)であり、両群間に有意差は認めなかった。病理病期別に検討すると陰性例では0期: 1例(8%)、I期: 1例(8%)、II期: 5例(38%)、III期: 2例(15%)、IV期: 4例(31%)で、陽性例では0期: 0例、I期: 2例(13%)、II期: 6例(38%)、III期: 7例(44%)、IV期: 1例(6%)であり、両群間に有意差は認めなかった。発現別の予後を検討すると、陽性例18例の5年生存率は48.2%で陰性例では5年生存率が34.1%であり、陽性例において予後良好の傾向にあったが、有意差は認めなかった。

(5) 免疫療法を行う上で重要な HLA class I 分子の発現と臨床病理学的因子の解析を行った。抗体は、HLA class I 抗体(EMR8-5)を用いて免疫組織学的染色を施行した。発現率が80%を超える症例を正常発現、20%以上80%以下を低発現、20%未満を重度低発現と分類した。結果は、正常発現2例、低発現23例、重度低発現4例であった。病理病期別の解析では、正常発現に比べ低発現・重度低発現症例でより病理病期の進行した症例が多かった。予後を比較すると、正常発現の5年生存率は100%であるのに対し、低発現28.2%、重度低発現37.5%と正常発現に比べ、低発現・重度低発現では予後不良であった。

Topoisomerase I の発現は予後因子とはならなかったが、Topoisomerase II alpha および HLA class I 分子の発現は、いずれも陽性例において、有意ではなかったが、予後が良好である傾向が認められた。今後も食道癌の予後因子および治療効果予測因子となる分

子の検討を進めていく。食道癌において、topoisomerase-I および Topoisomerase II alpha の発現を認める症例をそれぞれ62%、55%に認めたが、これらの症例でCPT-11やアントラサイクリンの効果予測が可能か検討を継続する必要がある。さらに、今後も食道癌の予後因子および治療効果予測因子となる分子の検索を続けていく。また、MAGE 抗原や NY-ESO-1 などの癌抗原を標的とした免疫療法の確立を目指していく。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

- ① 小野憲司, 竹中賢, 横山えりな, 岡壮一, 馬場哲郎, 宗哲哉, 宗知子, 浦本秀隆, 竹之山光広, 花桐武志, 安元公正: 他臓器重複癌を有する食道癌切除例. 胸部外科 64:93-96. 2011 査読有
- ② Sugio K, Uramoto H, Onitsuka T, Mizukami M, Ichiki Y, Sugaya M, Yasuda M, Takenoyama M, Oyama T, Hanagiri T, Yasumoto K: Prospective phase II study of gefitinib in non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor gene mutations. Lung Cancer 64:314-318. 2009 査読有
- ③ Nose N, Sugio K, Oyama T, Nozoe T, Uramoto H, Iwata T, Onitsuka T, Yasumoto K: Association between estrogen receptor-beta expression and epidermal growth factor receptor mutation in the postoperative prognosis of adenocarcinoma of the lung. J Clin Oncol 27:411-417. 2009 査読有
- ④ Oyama T, Sugio K, Isse T, Matsumoto A, Nose N, Uramoto H, Nozoe T, Morita M, Kagawa N, Osaki T, Muto M, Yasumoto K, Kawamoto T: Expression of Cytochrome P450 in non-small cell lung cancer. Front Biosci 13:5787-5793. 2008 査読有

[学会発表] (計4件)

- ① 小野憲司, 花桐武志, 永田好香, 下川秀彦, 重松義紀, 馬場哲郎, 浦本秀隆, 竹之山光広, 安元公正: 食道癌における HLA class I 分子の発現に関する検討. 第48回日本癌治療学会学術集会 京都. 2010年10月28-30日
- ② 小野憲司, 下川秀彦, 馬場哲郎, 重松義紀, 宗哲哉, 浦本秀隆, 宗知子, 竹之山光広, 花桐武志, 安元公正: 食道癌における Topoisomerase I の発現に関する検討. 第64回日本食道学会学術集会 久留米. 2010年8月31日-9月1日
- ③ 小野憲司, 花桐武志, 馬場哲郎, 宗哲哉, 浦本秀隆, 宗知子, 竹之山光広, 安元公

正：当科における食道癌と他臓器重複癌症例の検討. 第62回日本胸部外科学会定期学術集会 横浜. 2009年10月11-14日

- ④ 野添忠浩, 鬼塚貴光, 岩田輝男, 水上真紀子, 市来嘉伸, 安田学, 浦本秀隆, 竹之山光広, 小山倫浩, 花桐武志, 杉尾賢二, 安元公正: 食道扁平上皮癌における α 、 β 、 γ カテニン発現の意義. 第108回日本外科学会定期学術集会 長崎. 2008年5月15-17日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉尾 賢二 (SUGIO KENJI)

国立病院機構九州がんセンター・臨床研究部・部長

研究者番号：70235927

(H20: 研究代表者)

(2) 研究分担者

花桐 武志 (HANAGIRI TAKESHI)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30299614

(H20: 研究分担者、

H21→H22: 研究代表者)

小野 憲司 (ONO KENJI)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：40369062

(H21→H22: 研究分担者)

重松 義紀 (SHIGEMATSU YOSHIKI)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：10546469

(H21→H22: 研究分担者)

安元 公正 (YASUMOTO KOSEI)

産業医科大学・医学部・名誉教授

研究者番号：30150452

(H20→H21: 研究分担者、

H22: 連携研究者)

大賀 丈史 (OHGA TAKESHI)

九州大学・医学部・助教

研究者番号：60335958

(H20: 研究分担者)

(3) 連携研究者

野添 忠浩 (NOZOE TADAHIRO)

産業医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：90325457

安田 学 (YASUD MANABU)

産業医科大学・医学部・非常勤医師

研究者番号：50352307