

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 8 月 18 日現在

機関番号：87102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591938

研究課題名(和文)食道癌に対するDNA修復機構を標的とした分子治療に関する研究

研究課題名(英文)Target therapy against DNA repair system for esophageal cancer

研究代表者

江頭 明典(Egashira, Akinori)

独立行政法人国立病院機構(九州がんセンター臨床研究センター)・その他部局等・その他

研究者番号：00419524

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：食道癌におけるDNA修復異常の分子機構を明らかにするとともに、これらの経路を標的とした分子標的治療を検討することを目的に研究を行った。酸化性DNA損傷塩基とその修復酵素の発現を検討し、食道発癌における酸化性DNA修復機構の関与、食道発癌の危険因子である喫煙がDNA酸化損傷を介して食道発癌に関与する可能性が示唆された。また、DNA二本鎖切断に対する修復機構の異常が食道癌の悪性度や、治療効果を規定する因子となり得る可能性も示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although the prognosis of esophageal cancer is poor, the therapeutic outcome is getting better by multimodal treatment. The purpose of this study is to clarify the molecular mechanism of DNA repair deficiency in esophageal cancer and develop the molecular targeting therapy against these pathways.

By analyzing the level of 8-OHdG and OGG1 enzyme, oxidative DNA damage, which is attributable to smoking as well as disturbances in DNA repair systems, appears to be closely related to esophageal carcinogenesis and its progression. By analyzing RAD51 expression, DNA double strand break repair deficiency seems to be associated with poor survival and might be a predictive factor for the response to neoadjuvant therapy.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：食道癌 DNA修復 標的治療

## 1. 研究開始当初の背景

食道癌は非常に予後が悪い疾患であるものの、集学的治療によりその成績は向上してきている。食道癌における DNA 修復異常の分子機構を明らかにするとともに、これらの経路を標的とした分子標的治療を検討することを目的に研究を行った。酸化 DNA 損傷塩基 (8-OHdG) とその修復酵素 (OGG1) の発現を検討したところ、8-OHdG は重喫煙者の正常食道に多く、また正常組織よりも癌組織に多く発現し、OGG1 は逆に癌組織で発現が低下していた。これは食道癌における酸化 DNA 修復機構の関与を示唆するとともに、食道癌の危険因子として広く認識されている喫煙が DNA 酸化損傷を介して食道癌に関与する可能性を示唆している。

DNA 二本鎖切断修復機構、特に相同組換えにおいて中心的な役割を果たす RAD51 タンパク質についての解析では、RAD51 タンパク質高発現がリンパ節転移および予後不良に相関していること、また術前治療後に手術を施行した患者においては、RAD51 低発現と治療効果に相関を認められた。この結果は、DNA 二本鎖切断に対する修復機構の異常が食道癌の悪性度と関連するのみならず、治療効果を規定する可能性を示唆している。

## 2. 研究の目的

本研究における目的は、「食道癌における DNA 修復異常の分子機構を明らかにするとともに、これらの経路を標的とした分子標的治療を検討すること」である。これまでの報告より消化管癌における DNA 修復機構関与は明らかであるが、食道癌抑制における DNA 修復経路の関与、その重要性については明らかにされていない。

## 3. 研究の方法

食道癌、進展における DNA 修復機構の関与を検討するため、食道癌組織における DNA 修復関連因子の分子異常を、タンパク質発現や遺伝子異常に注目して解析する。また食道癌患者の背景を詳細に検討することにより、遺伝的要因および環境要因の関与についても検討する。

## 4. 研究成果

(1) 食道癌における酸化損傷修復機構の関与  
p53 タンパク質は DNA 修復或いは細胞死に関与し、これまで種々の癌において関連が報告されている。我々は、食道扁平上皮癌において p53 遺伝子変異を 50.6% に、p53 遺伝子座の LOH を 67.5% に、p53 タンパク質発現異常を 56.4% に認めることを報告した。しかしながら予後との間に相関は認めず、食道癌における p53 経路は悪性度ではなく発癌におい

て重要であると考えられた (Egashira A et al., *J Surg Oncol* 2011)。

p53 遺伝子変異スペクトラム解析において、通常の固形癌ではあまり頻度が高くない G:C T:A トランスポージョン変異を多く認めている。このことはトランスポージョン型変異の誘因となる酸化 DNA 損傷およびその修復機構が、食道癌に関与していることを示唆する (Egashira A et al., *Cancer Sci* 2007)。酸化 DNA 損傷塩基である 8-OHdG およびその修復酵素の一つである OGG1 の発現を免疫組織学的に検討したところ、8-OHdG は重喫煙者の正常食道に多くみられ、また正常組織よりも癌組織に多く見られること、修復酵素である OGG1 は逆に癌組織で発現が低下していることを見出した (Kubo N, Egashira A et al., *Dis Esophagus* 2014)。これは食道癌における酸化 DNA 修復機構の関与を示唆するとともに、食道癌の危険因子として広く認識されている喫煙が、DNA 酸化損傷を介して食道癌に関与する可能性を示唆している。

## (2) 食道癌における DNA 二本鎖切断修復機構の関与

DNA 修復機構は、同一の損傷に対していくつかの修復機構がオーバーラップしてその機能を担っており、また修復できないような損傷に対しては積極的に細胞死へ向かうように誘導する機構も存在する。これまでの報告より食道癌においても、DNA 二本鎖切断に対する修復機構が関与していることが強く示唆されている。DNA 二本鎖切断は放射線照射やある種の抗癌剤 (DNA 架橋剤であるシスプラチンなど) によって惹起される損傷である。RAD51 タンパク質は DNA 二本鎖切断に対する修復機構のうち、相同組み換えによる修復を担う中心的なタンパク質である。

共同研究者らにより、術前無治療にて手術を施行した食道扁平上皮癌患者においては、RAD51 タンパク質高発現がリンパ節転移および予後不良に相関していること、また術前化学放射線療法後に手術を施行した患者においては、RAD51 低発現群に完全寛解 (complete response) 症例を多く認めたことを報告した (Nakanoto T, Morita, M et al., *Ann Surg Oncol*, 2014)。

この結果は、DNA 二本鎖切断に対する修復機構の異常が食道癌の悪性度と関連するのみならず、治療効果を規定する可能性を示唆している。このことより "synthetic lethality (合成致死)" 即ち、ある DNA 修復経路を欠損した癌細胞に対して相補する他の経路をブロックすることで、両経路が抑制された癌細胞のみが致死性になるとの概念に基づいた治療の開発へと繋がる可能性が広がった。

## (3) 食道癌治療の現状と DNA 修復機構を標的とした新たな治療への展望

食道癌は他の消化器癌と比較し、非常に予後が悪い疾患である。その要因としては、悪性度が高いこと、早期発見が比較的困難であること、他癌の合併が多く治療に難渋することなどが挙げられる。

食道癌の特徴の一つである重複癌症例についての解析を行い、重複癌を有する食道癌においてもその治療成績は変わらないことを報告した (Egashira A. et al. submitted)。食道癌に合併する重複癌としては頭頸部癌が多く、その多くは食道癌と同じ carcinogen に暴露されており、発癌経路は類似していると考えられる。この知見により、たとえ重複癌を有していてもそれぞれに対する治療を的確に行う事で、比較的良い成績が得られることを示している。

一方、食道癌の中で本邦に多い扁平上皮癌は、化学療法や放射線療法に比較的感受性が高いことが知られている。現在、臨床病期 II 或いは III の食道癌に対する標準治療であるシスプラチンと 5FU (FP 療法) を用いた術前化学療法を施行した 37 例について解析した。術前治療効果は奏効率 48.6% と比較的高率であるが、組織学的治療効果において grade 1b 以上 (癌細胞の 1/3 以上が死滅) の responder は 29.4% であった。その治療成績は根治切除症例において 3 年生存率が 74.5% とまずまずではあったものの、14 例 (41.1%) に再発を認めた (江頭明典他、日本食道学会、2013 年)。この結果からは、術前治療においては一定の効果を認めるものの、治療成績向上のためには化学療法レジメンの工夫や放射線併用療法の検討が必要であることが示唆された。

一方、局所高度進行 (T4) 食道癌に対する治療として、手術群 (術前治療を含む) と根治的放射線療法 (CRT) 群の治療成績について検討を行った。手術群は CRT 群より 5 年生存率が有意に良好 (35.7% vs 12.2%) であった。しかしながら、CRT 群においても治療により完全寛解が得られた症例は更に良好な成績 (5 年生存率、48.8%) であった (江頭明典他、日本外科学会、2013 年)。このことは、化学放射線療法の治療効果を予測するための、治療効果判定分子マーカーの同定が望まれることを強く示唆する。食道癌に対しては、シスプラチンと 5FU を併用した化学放射線療法が多く用いられており、p53 タンパク質や RAD51 タンパク質をはじめとした DNA 修復関連タンパク質がその候補となりうると考えられ、解析を進めている。

#### 考察

本研究では、食道発癌および進展における DNA 修復機構の関与を検討し、酸化的 DNA 修復機構および DNA 二本鎖切断修復機構の関与が示唆される結果となった。食道発癌の危険因子として広く認識されている喫煙が、DNA 酸化損傷を介して食道発癌に関与する可能性、DNA 二本鎖切断に対する修復機構の異常

が治療効果を規定する可能性も同時に示唆された。

現在の食道癌に対する標準治療は、切除可能であってもある程度進行した stage II 及び stage III 症例に関しては術前化学療法 (即ち、化学療法を行った後に手術を行う) であり、切除が困難な局所高度進行 (T4) 食道癌に対しては術前化学放射線療法を行う事が多い。この際に問題となるのは術前治療の効果予測が困難であることである。RAD51 タンパク質の発現が治療効果判定に寄与する可能性があり、今後も解析を続けていく予定である。

#### 結論

食道癌と DNA 修復異常の関連を解析し、食道発癌における酸化的 DNA 修復機構の関与、DNA 二本鎖切断修復機構と食道癌の悪性および術前治療効果との関連について示唆される結果が得られた。

今後は更に解析を進め、これらの因子の食道癌治療への応用に結びつけられるような工夫が求められる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1. Egashira A, Taguchi K, Toh Y, Yamamoto M, Okamura T, Saeki H, Oki E, Morita M, Ikeda T, Mimori K *et al*: Successful treatment of primary jejunal cancer after esophageal and colon cancer resection. *Fukuoka igaku zasshi = Hukuoka acta medica* 2013, 104(11):435-441.
2. Morita M, Kawano H, Otsu H, Kimura Y, Saeki H, Ando K, Ida S, Oki E, Ikeda T, Kusumoto T *et al*: Surgical resection for esophageal cancer synchronously or metachronously associated with head and neck cancer. *Annals of surgical oncology* 2013, 20(7):2434-2439.
3. Nakashima Y, Yoshinaga K, Kitao H, Ando K, Kimura Y, Saeki H, Oki E, Morita M, Takeji Y, Hirahashi M *et al*: Podoplanin is expressed at the invasive front of esophageal squamous cell carcinomas and is involved in collective cell invasion. *Cancer science* 2013, 104(12):1718-1725.
4. Saeki H, Morita M, Tsuda Y, Hidaka G, Kasagi Y, Kawano H, Otsu H, Ando K, Kimura Y, Oki E *et al*: Multimodal treatment strategy for clinical T3 thoracic esophageal cancer. *Annals of surgical oncology* 2013, 20(13):4267-4273.
5. Toh Y, Egashira A, Yamamoto M: Epigenetic alterations and their clinical implications in esophageal squamous cell carcinoma. *General thoracic and cardiovascular surgery* 2013, 61(5):262-269.
6. Kubo N, Morita M, Nakashima Y, Kitao H,

Egashira A, Saeki H, Oki E, Takeji Y, Oda Y, Maehara Y: Oxidative DNA damage in human esophageal cancer: clinicopathological analysis of 8-hydroxydeoxyguanosine and its repair enzyme. *Diseases of the esophagus : official journal of the International Society for Diseases of the Esophagus / ISDE* 2014, 27(3):285-293.

7. Morita M, Otsu H, Kawano H, Kasagi Y, Kimura Y, Saeki H, Ando K, Ida S, Oki E, Tokunaga E *et al*: Gender differences in prognosis after esophagectomy for esophageal cancer. *Surgery today* 2014, 44(3):505-512.

8. Nakanoko T, Saeki H, Morita M, Nakashima Y, Ando K, Oki E, Ohga T, Takeji Y, Toh Y, Maehara Y: Rad51 expression is a useful predictive factor for the efficacy of neoadjuvant chemoradiotherapy in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Annals of surgical oncology* 2014, 21(2):597-604.

#### 学会発表

1. 江頭明典、森田勝、藤也寸志、大垣吉平、前原伸一郎、南 一仁、池田泰治、坂口善久、檜垣雄一郎、岡村 健。「同時性食道・頭頸部重複癌の臨床的特徴と治療成績」、第66回日本食道学会学術集会、軽井沢、2012年6月22日
2. 江頭明典、藤家雅志、岩永彩子、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、藤也寸志、岡村 健。「三角吻合法による頸部食道胃管吻合術についての検討」、第65回日本胸部外科学会定期学術集会、福岡、2012年10月19日
3. 江頭明典、藤家雅志、岩永彩子、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、藤也寸志、岡村 健。「進行食道癌に対する術前補助化学療法の有用性の検討」、第50回癌治療学会学術集会、横浜、2012年10月25日
4. 江頭明典、藤家雅志、岩永彩子、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、藤也寸志、岡村 健。「進行食道癌に対する術前補助化学療法の検討」、第64回日本気管食道科学会学術総会、東京、2012年11月8日
5. 江頭明典、藤家雅志、岩永彩子、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、藤也寸志、岡村 健。「食道癌に対する術前補助化学療法の効果予測に向けて」、第23

回日本消化器癌発生学会総会、徳島、2012年11月15日

6. Akinori Egashira, Yasushi Toh, Manabu Yamamoto, Kippei Ohgaki, Kazuhito Minami, Yoshihisa Sakaguchi, Takeshi Okamura. "PALLIATIVE THERAPY FOR ADVANCED ESOPHAGEAL CANCER", 21th Annual meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery, Apr. 6, 2013
7. 江頭明典、藤也寸志、藤家雅志、岩永彩子、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、藤也寸志、岡村 健。「進行食道癌に対する集学的治療」、第113回日本外科学会定期学術総会、福岡、2013年4月13日
8. 江頭明典、藤也寸志、藤家雅志、岩永彩子、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、岡村 健。「進行食道癌に対する術前化学療法および術前化学放射線療法の検討」、第67回日本食道学会学術総会、大阪、2013年6月13日
9. 江頭明典、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、藤也寸志、岡村 健。「食道癌集学治療における緩和医療が果たす役割」、第18回日本緩和医療学会学術大会、横浜、2013年6月21日
10. 江頭明典、藤也寸志、大垣吉平、前原伸一郎、根東順子、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、岡村 健。「当院での食道癌治療における緩和医療の関わり」、第68回日本消化器外科学会定期学術総会、宮崎、2013年7月17日
11. 江頭明典、藤家雅志、上江洲一平、大垣吉平、前原伸一郎、山本 学、南 一仁、池田泰治、坂口善久、藤也寸志、岡村 健。「食道神経内分泌癌の診断および治療」、第24回日本消化器癌発生学会総会、金沢、2013年9月6日
12. 江頭明典、上江洲一平、藤家雅志、大垣吉平、前原伸一郎、山本 学、南 一仁、池田泰治、藤也寸志、岡村 健。「T4食道癌に対する治療戦略と成績」、第66回日本胸部外科学会定期学術集会、仙台、2013年10月17日
13. 江頭明典、藤也寸志、上江洲一平、藤家雅志、大垣吉平、前原伸一郎、山本 学、南 一仁、池田泰治、岡村 健。「食道癌に対する根治的化学放射線療法の治

療成績と問題点」第 51 回日本癌治療学会学術集会、京都、2013 年 10 月 25 日

14. 江頭明典、上江洌一平、藤家雅志、大垣吉平、金城 直、山口将平、前原伸一郎、山本 学、南 一仁、池田泰治、藤也寸志、岡村 健。「同時性頭頸部癌合併食道癌の臨床病理学的特徴と治療法についての検討」第 65 回日本気管食道科学会総会、東京、2013 年 11 月 1 日
15. 江頭明典、大垣吉平、金城 直、山口将平、前原伸一郎、山本 学、南 一仁、池田泰治、藤也寸志、岡村 健。「食道切除再建術における腹腔鏡補助下胃管作成」第 26 回日本内視鏡外科学会総会、福岡、2013 年 11 月 28 日
16. 江頭明典、藤也寸志、上江洌一平、藤家雅志、大垣吉平、金城 直、山口将平、前原伸一郎、山本 学、南 一仁、池田泰治、岡村 健。「他臓器浸潤(T4)食道癌に対する集学的治療の検討」第 114 回日本外科学会定期学術総会、京都、2014 年 4 月 5 日
17. Akinori Egashira, Yasushi Toh, Manabu Yamamoto, Kippei Ohgaki, Syohei Yamaguchi, Kazuhito Minami, Naonobu Kunitake, Kazuhiro Okushima and Takeshi Okamura. "Clinical outcomes and problems of definitive chemoradiotherapy for esophageal cancer", 18<sup>th</sup> WCBIP/WCBE, Kyoto, Apr. 15, 2014

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
なし

6. 研究組織  
(1) 研究代表者  
江頭 明典(egashira akinori)  
国立病院機構九州がんセンター 臨床研究センター  
研究者番号：00419524
- (2) 研究分担者  
掛地 吉弘(kakeji yoshihiro)  
研究者番号：80284488
- 森田 勝(morita masaru)  
研究者番号：30294937
- 大賀 丈史(ohga takefumi)  
研究者番号：60335958
- 園田 英人(sonoda hideto)  
研究者番号：00465725