

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591797

研究課題名(和文) PET/CTと癌増殖シグナル伝達因子を用いた肺癌150例の生存率と予後解析

研究課題名(英文) The prognostic analyses by PET/CT and signal transduction pathway in 150 lung cancer patients.

研究代表者

甲斐田 勇人 (KAIDA, Hayato)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：40299425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：研究の目的は非小細胞肺癌で手術を受けた患者150名の摘出標本に癌増殖シグナル伝達因子の免疫染色を行い、FDG集積と癌増殖シグナル伝達因子との相関性を明らかにし、非小細胞肺癌の生存率に関係する最適なFDG集積の評価方法(SUV max, MTV, TLG)とシグナル伝達因子を明らかにする事で再発や転移リスク患者の層別化が可能か検討した。Western blotでFDGの集積規定因子のGlut-1に関するシグナル伝達因子はStat-1, Stat-3であり、FDG集積との相関性が見られたのはGlut-1, Stat-3で関連性が見られた。予後はSUV max, MTV, TLG共に関連が見られた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the correlation between 18F-fluorodeoxyglucose (18F-FDG) uptake and cancerous signal transduction pathway, and assess the appropriate 18F-FDG uptake parameters [maximum standardized uptake value (SUVmax), metabolic tumor volume (MTV), total lesion glycolysis(TLG)] and cancerous signal transduction factors for survival rate in 150 completely surgically resected non-small cell cancer (NSCLC) patients. We found that signal transducer and activator of transcription-1 (Stat-1) and Stat-3 were related with Glucose transporter-1 (Glut-1) which is 18F-FDG uptake determined factor. The signal transduction factors correlated with 18F-FDG uptake parameters were Glut-1 and Stat-3. With regard to prognosis of NSCLC patients, all 18F-FDG uptake parameters are associated with survival rate of NSCLC.

研究分野：放射線医学(核医学)

キーワード：核医学 FDG-PET 肺癌 癌増殖シグナル伝達因子

1. 研究開始当初の背景

癌 FDG 集積機序に GLUT-1, Hexokinase の関連が知られていたが、血管新生因子(VEGF)、低酸素因子(HIF1-) 関与も報告された(Kaira K, J Clin Oncol 2010;28:3746-53)。P 糖蛋白発現、癌抑制遺伝子変異も集積機序への関連が示され、癌 FDG 集積機序とバイオマーカーの関係は注目されている。

2. 研究の目的

過去 8 年に非小細胞肺癌で手術を受けた 150 名の患者の摘出標本を用いて癌増殖シグナル伝達因子の免疫染色を行い、FDG 集積と癌増殖シグナル因子の関係を明らかにする。

FDG 集積の評価は SUV max, TLG, MTV を用い、生存率と FDG 集積、癌増殖シグナル伝達因子の総合的關係から予後を見る最適の FDG 集積評価法と癌増殖シグナル伝達因子を明らかにすることで再発や転移リスク患者の層別化が可能か検討する。同時に FDG 集積関連因子と癌増殖シグナル伝達因子の総合的な病理学的関連性を免疫染色と Western blot 法の両方で証明する。

3. 研究の方法

(1)久留米大学病院で過去 8 年間、非小細胞肺癌で術前に FDG-PET 検査を施行した 150 名の患者生存期間や臨床経過や治療内容等の生存曲線作成に関するデータベースの構築を診療録から作成する。作成内容は PET 検査等の画像検査の結果以外に TNM stage、診断確定日、手術日、術式や術後病理結果、術後補助療法の有無、再発転移の有無や部位、転移や再発後治療内容や期間、生存期間、死因等についてである。

(2)PET データ解析は原発巣に ROI を設定し maximum standardized uptake value (SUV max), total lesion glycolysis (TLG), metabolic tumor volume (MTV)の算出を行った。データ解析は PET View Workstation (Sun Microsystems, Inc., Santa Clara, CA)で行う。TLG の算出は以下の式で算出した (TLG= SUV mean × MTV)

(3)切除摘出標本で癌増殖シグナル伝達因子

の免疫染色を行う。FDG 集積関連因子である Glucose transporter-1(Glut-1)に関連する癌シグナル伝達因子を調べるためにバイオ細胞を用いて Glut-1 の発現を確認し Glut-1 に関係する癌シグナル伝達因子を検索するために Western blot 法を用いて Glut-1 をノックダウンさせて Glut-1 に関係する癌シグナル伝達因子の検索を行い、その結果から免疫染色を行った。

(4)FDG 集積と癌増殖シグナル伝達因子の相関性、生存率と FDG 集積、癌増殖シグナル伝達因子の關係から、生存率と最も関連した FDG 集積評価法と癌増殖シグナル伝達因子を検討し、非小細胞肺癌患者の再発や転移リスク患者の層別化が可能か統計学的手法で検討する。統計解析に関しては久留米大学のバイオ統計部門に解析を依頼し、生存率と癌増殖シグナル伝達因子、生存率と FDG 集積と関連をみるために Over-all survival (OS)や progression free survival (PFS), hazard ratio 等を算出し、非小細胞癌患者の予後を評価する。

4. 研究成果

まず、FDG 集積の規定因子である Glut-1 と関係ある癌シグナル伝達因子を調べるために Western blot 法を用いて肺癌のバイオ細胞に Glut-1 が発現しているかどうかを確認し、Glut-1 のノックダウンを行った。その結果、Glut-1 に関係する癌シグナル伝達因子は signal transducer and activator of transcription-1 (Stat-1) や Stat-3, mammalian target of rapamycin (mTOR), Bad, SAPK, P38MAPK, PRAS40, FGFR3, Met, Ckit が関係する事がわかった。これらに関してはバイオ細胞での再現実験を行い、さらには、これらの癌シグナル伝達因子が免疫染色が可能かどうかや過去の文献から検討した結果、最終的には Glut-1 と関連性のある癌シグナル伝達因子は Stat-1, Stat-3 と判断した。

また、肺癌のデータベースの作成を行った。久留米大学病院で非小細胞肺癌の手術を受

けた患者を対象としたが、術前化学療法を受けた患者、術後の経過観察期間が半年未満の患者、FDG 集積していない肺癌患者、腫瘍径が 10mm 未満の患者、肺腺癌と肺扁平上皮癌の以外の病理組織型の患者はこの検討からは除外した。最終的には 140 名の患者（男性 85 名、女性 55 名）が対象となった。患者の FDG 集積の TLG, MTV, SUV mean, TLG、年齢、喫煙係数（brinkman 係数）の中央値(最小値、最大値)は以下の通りである。

Adeno+squamous	Median (min,max)
suvmax_early	3.92(0.83, 15.39)
suvmean_early	2.39(0.52, 10.29)
mtv_early	4.00(0.83, 123.78)
tlg_early	10.93(0.59, 595.31)
age	73.00(42.00, 91.00)
brinkman	270.00(0.00,4300.00)

FDG 集積のパラメーターと臨床病理学的因子との関係も検討した結果 SUV max, TLG, MTV, SUV mean と病理組織、喫煙、pathological Stage, Clinical Stage, 年齢、性別においていずれも有意差が見られた。

FDG 集積と予後との関係についてはそれぞれの中央値を cut off 値として OS, PFS との関係を検討した。OS については SUV max, SUV mean, TLG と有意差が見られたが、MTV との間には有意差が見られなかった。

OS; SUV max; P=0.015, SUV mean; P=0.007, MTV; P=0.124, TLG; P=0.008

PFS; SUV max; P<0.001, SUV mean; P=0.004, MTV; P=0.005, TLG; P<0.001

また、Cox hazard 解析も行い、OS に関しては SUV max や SUV mean よりも TLG や MTV が独立した予後因子であった(TLG; P=0.037, MTV; P=0.036, SUV max; P=0.326, SUV mean; P=0.325)。PFS に関しては SUV max, SUV mean, TLG, MTV いずれも有意な独立した予後因子であった(TLG; P=0.002, MTV;P=0.021, SUV max; P=0.005, SUV mean; P=0.009)。

さらに SUV max, TLG, MTV に関しては、OS, PFS について ROC 解析を行った。ROC

解析では SUV max, SUV mean, TLG, MTV の間には有意差は見られなかった。

これらの事から、FDG 集積の評価法である SUV max, SUV mean, TLG, MTV はいずれも非小細胞肺癌の予後の評価に有用である事がわかった。

また、SUV max, TLG, MTV と Stat-1, Stat-3, Glut-1 との相関性については SUV max, TLG, MTV, SUV mean は Glut-1 と有意な正の相関を認め、Stat-3 とは有意な逆相関を認めた。

Stat-1 と SUV max, TLG, MTV の間には有意な相関は見られなかった。また、Glut-1 については Stat-1 と有意な相関は見られなかったが、Stat-3 とは有意な逆相関を認めた。このことから、非小細胞肺癌の FDG の高集積には Glut-1 の高発現と Stat-3 の低発現が関与している事がわかった。

これらの結果については、2015 年 10 月にドイツのハンブルグで開催される European Association of Nuclear Medicine 2015 等で学会発表を行う予定であり、最終的には論文にまとめる予定である。

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)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

甲斐田 勇人 (KAIDA, Hayato)
久留米大学・医学部・助教
研究者番号：40299425

(2) 研究分担者

藤本 公則 (FUJIMOTO, Kiminori)
久留米大学・医学部・准教授
研究者番号：00199366

東 公一 (AZUMA, Koichi)
久留米大学・医学部・講師
研究者番号：00368896

早淵尚文 (HAYABUCHI, Naofumi)
久留米大学・医学部・教授
研究者番号：20108731
(平成 25 年度より研究協力者)

石橋正敏 (ISHIBASHI, Masatoshi)
久留米大学・医学部・教授
研究者番号：20168256
(平成 26 年度より研究協力者)

高森信三 (TAKAMORI, Shinzo)
久留米大学・医学部・教授
研究者番号：50197028

服部 聡 (HATTORI, Satoshi)
久留米大学・バイオ統計センター・教授
研究者番号：50425154
(平成 26 年度より連携研究者)

鹿毛政義 (KAGE, Masayoshi)
久留米大学・大学病院・教授
研究者番号：80148840

倉田精二 (KURATA, Seiji)
久留米大学・大学病院・講師
研究者番号：80268888

(3) 連携研究者

服部 聡 (HATTORI, Satoshi)
久留米大学・バイオ統計センター・教授
研究者番号：50425154

(4) 研究協力者

早淵尚文 (HAYABUCHI, Naofumi)
石橋正敏 (ISHIBASHI, Masatoshi)