

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 7 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591846

研究課題名(和文)分子生物学的マーカーを用いた前立腺癌放射線治療後の有害事象予測

研究課題名(英文) Prediction of late rectal bleeding treated with radiotherapy for prostate cancer using biochemical marker.

研究代表者

染谷 正則 (Someya, Masanori)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：60404711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：患者個々の正常組織の耐容線量の予測を目的とし、当院で局所限局期前立腺癌で根治的放射線治療を行った患者群のうち、3年以上の経過観察で有害事象発生の有無が確認できた97例を対象に採血、リンパ細胞を分離し、DNA修復に関わるDNA-PKのmRNA発現解析、マイクロアレイによる網羅的な解析を行い、晩期有害事象であるgrade2以上の直腸出血の有無とRNA発現との比較を行なった。その結果として、直腸線量の高低とは独立して、DNA-PKのサブユニットの1つであるKu80のmRNA発現、microRNA-99aのX線照射による発現変化という2つの因子が晩期直腸出血に関連している事を示した。

研究成果の概要(英文)：To predict individual radiosensitivity of normal tissue, we collected and analysed the expressions of Ku80 mRNA and radiation-induced microRNA-99a in peripheral blood lymphocytes treated with radiotherapy for prostate cancer. Peripheral blood lymphocytes were collected from 97 prostate cancer patients with at least 3 year of follow-up after radiotherapy. As a result, a combination of low Ku80 mRNA expression and highly-induced microRNA-99a could precisely detect grade 2 or more of radiation-induced late rectal bleeding. In conclusion, a combination of low Ku80 expression and highly-induced microRNA-99a expression could be a promising marker for predicting rectal bleeding after radiotherapy.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：放射線直腸炎 前立腺癌 放射線治療 有害事象予測

1. 研究開始当初の背景

近年の放射線治療においては、正常組織を避けつつ腫瘍への線量増加をする事で治療成績の向上が見られてきたが、それは主に放射線治療機器の物理的・技術的な進歩によって達成されてきた。しかし、正常組織と標的体積が非常に近接する疾患の場合には、正常組織の耐容線量そのものが投与線量を規定しており、それが線量増加による治療成績向上の限界となっている。従って、患者個々の正常組織の耐容線量が予測できれば、個別化した放射線治療が可能になることが期待される。

マイクロ RNA (micro-RNA) とは、細胞内に存在する長さ 20 から 25 塩基ほどの RNA で、他の遺伝子の発現を調節する機能を有する ncRNA (ノンコーディング RNA: タンパク質への翻訳はされない) の一種である。最近の放射線生物学研究により、ある種のマイクロ RNA が DNA2 重鎖切断修復に影響することが明らかになっている。

2. 研究の目的

今回、我々は前立腺癌で放射線治療を行った患者群を対象に、リンパ細胞を用いて、DNA-PK (DNA 依存性プロテインキナーゼ) など DNA2 重鎖切断修復に関わる遺伝子の RNA 発現と、DNA 修復に関わると思われるマイクロ RNA 発現の解析を行なう事で、晩期直腸出血という有害事象の予測に関わる新しいバイオマーカーの検索を行った。

3. 研究の方法

当院で 2002 ~ 2010 年にかけて局所限局期前立腺癌で根治的放射線治療 (外照射) を行った患者群のうち、3 年以上の経過観察で有害事象発生の有無が確認でき、なおかつ研究採血に同意された 97 例を対象に採血、リンパ細胞を分離し、DNA 修復に関わる DNA-PK の mRNA 発現解析、TaqMan TLDA マイクロアレイを用いた網羅的な解析を行い、晩期有害事象である grade2 以上の直腸出血の有無と RNA 発現との比較を行なった。同時に対象症例の線量分布の見直し、DVH 解析を行い、直腸の照射線量と直腸出血の関係についても解析を行なった。

4. 研究成果

その結果として、直腸線量の高低や糖尿病の有無、腹部手術歴の有無、抗凝固薬の併用の有無といった因子とは独立して、DNA-PK のサブユニットの 1 つである Ku80 の mRNA 発現、microRNA-99a の X 線 4Gy 照射 4 時間後の発現変化という 2 つの因子が晩期直腸出血に関連している事を示した (図 1 および図 2)。再現性を確認するために、IMRT で治療された 63 例を discovery cohort 群、3 次元の原体照射で治療された 34 例を validation cohort 群とし、それぞれ独立したグループ内でも同様の結果が得られた事を

確認した (図 3 および 4)。

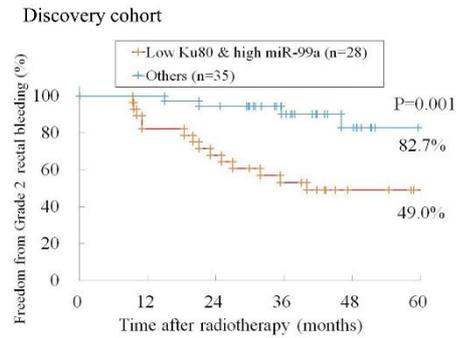


図 1. Discovery cohort において、リンパ細胞の Ku80 mRNA と miRNA-99a の X 線照射による発現変化の比を 2 群に分けた場合の、grade2 以上の出血発生率を示したグラフ

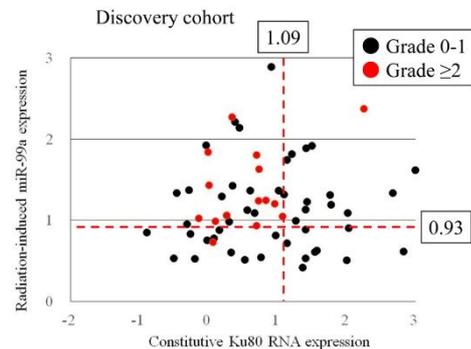


図 2. Discovery cohort において Ku80 の mRNA と miRNA-99a の X 線照射による発現変化の比を横軸と縦軸においた散布図で、カットオフ値を示したもの。左上の領域に grade2 以上の直腸出血が集まっている。

Validation cohort

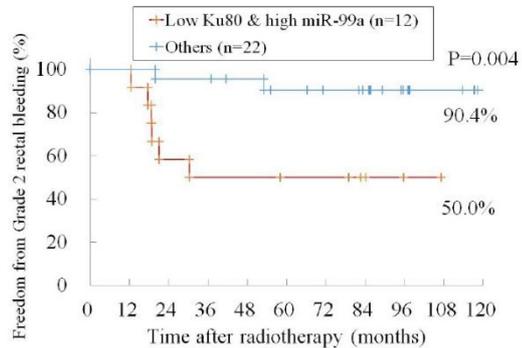


図 3. Validation cohort において、リンパ細胞の Ku80 mRNA と miRNA-99a の X 線照射による発現変化の比で 2 群に分けた場合の、grade2 以上の出血発生率を示したグラフ

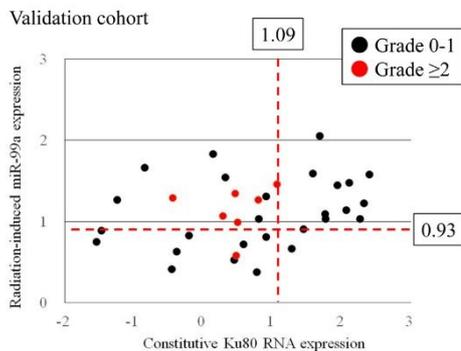


図4 .Validation cohort において Ku80 の mRNA 発現と miRNA-99a の X 線照射による発現変化の比を横軸と縦軸においた散布図で、カットオフ値を示したもの。Discovery cohort と同様の結果が示された。

Ku80 の mRNA 発現と miRNA-99a の X 線照射による発現変化の 2 つの指標を用いたの直腸出血の予測は、ROC 解析では AUC=0.752 という数値を示し、これは比較的高い精度での予測が可能である事を示している。また、特に陰性適中率(Negative Predictive Value) は Discovery cohort および Validation cohort を合わせて 94-95% という結果を示した。これは、放射線治療によって有害事象を起こしにくい群を精度良く予測できる事を示唆している。

今回の研究により、放射線治療前に採血しリンパ細胞の非照射での Ku80 の mRNA 発現と X 線照射による microRNA-99a の発現変化を測定することにより、前立腺癌の放射線治療の晩期有害事象である直腸出血を起こしやすい対象群を同定できる可能性を明らかにした。この結果を用いて、直腸出血を起こしにくい対象群に対しては線量増加試験を行い、安全性を見ながら局所の治療成績向上を目指す事が期待できる。また、直腸以外の消化管に関しても応用が可能と思われるため、子宮頸癌、膀胱癌、直腸癌といった疾患にも対象を拡大し、リンパ細胞の RNA 発現と有害事象発現の関係を調べていく事で、より幅広い疾患群での有害事象予測を行い、線量増加が可能な患者群を同定することができるようになることが展望される。

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)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Masanori Someya, Hiroyuki Yamamoto, Masanori Nojima, Masakazu Hori, Kunihiko

Tateoka, Kensei Nakata, Masaru Takagi, Masato Saito, Naoki Hirokawa, Takashi Tokino, Koh-ichi Sakata. Relation between Ku80 and microRNA-99a expression and late rectal bleeding after radiotherapy for prostate cancer. Radiotherapy and Oncology 2015 in press. 査読有
DOI: 10.1016/j.radonc.2015.04.008

Masanori Someya, Masakazu Hori, Kunihiko Tateoka, Kensei Nakata, Masaru Takagi, Masato Saito, Naoki Hirokawa, Masato Hareyama, Kohichi Sakata. Results and DVH analysis of late rectal bleeding in patients treated with 3D-CRT or IMRT for localized prostate cancer. Journal of Radiation Research 56:122-127, 2015. 査読有
DOI: 10.1093/jrr/rru080

Kensei Nakata, Koh-ichi Sakata, Masanori Someya, Katsutoshi Miura, Junichi Hayashi, Masaru Takagi, Tooru Himi, Atsushi Kondo, Masato Hareyama. Phase I study of oral S-1 and concurrent radiotherapy in patients with head and neck cancer. Journal of Radiation Research. 54:679-683, 2013. 査読有
DOI: 10.1093/jrr/rrs133

〔学会発表〕(計 8 件)

染谷正則、中田健生、堀正和、高田優、長谷川智一、北川未央、坂田耕一. Relation between Ku80 and microRNA-99a expression and late rectal bleeding after radiotherapy for prostate cancer、第 74 回日本医学放射線学会総会、2015 年 4 月 18 日、「パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)」

染谷正則. 放射線治療後のリンパ球および血清を用いた治療効果および有害事象予測、第 8 回 Quantum Medicine 研究会、2015 年 3 月 1 日、「茨城大学理学部(茨城県・水戸市)」

染谷正則、堀正和、中田健生、高田優、坂田耕一. 末梢血リンパ球を用いた前立腺癌放射線治療後の直腸出血の予測、第 27 回日本放射線腫瘍学会学術大会、横浜、2014 年 12 月 12 日、「パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)」

染谷正則、堀正和、中田健生、高田優、坂田耕一. 末梢血リンパ球を用いた前立腺癌放射線治療後の直腸出血の予測、日本放射線腫瘍学会 第 52 回生物部会学術大会、2014 年 7 月 12 日、「メルパルク京都(京都府・京都市)」

染谷正則. 個人の放射線感受性予測を目

指して、第7回 Quantum Medicine 研究会、
2014年3月9日、「茨城大学理学部(茨城県・
水戸市)」

染谷正則、中田健生、堀正和、坂田耕一。
前立腺癌根治照射後の放射線直腸炎と DVH
解析、第26回日本放射線腫瘍学会学術大会、
2013年10月19日、「ホテル青森、リンクス
テーション青森(青森県・青森市)」

染谷正則、癌患者におけるリンパ球の
DNA-PK 活性と放射線治療後の予後との関係、
第6回 Quantum Medicine 研究会、2013年3
月3日、「茨城大学理学部(茨城県・水戸市)」

染谷正則、三浦勝利、坂田耕一、晴山雅
人。H2AX フォーカス形成を指標としたオ
ラパリブの放射線増感効果の解析、第25回
日本放射線腫瘍学会学術大会、2012年11月
23日、「東京国際フォーラム(東京都・千代
田区)」

〔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

染谷 正則 (MASANORI SOMEYA)
札幌医科大学・医学部・講師
研究者番号：60404711

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし