

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462065

研究課題名(和文)大腸癌化学療法の効果予測するDNA修復蛋白群発現に関する研究

研究課題名(英文) Expression of DNA repair proteins predicts the response and prognosis of colorectal cancer patients undergoing chemotherapy

研究代表者

山口 悟 (Yamaguchi, Satoru)

獨協医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20344947

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：オキサリプラチンなどのDNA鎖内架橋剤は、DNA修復および複製中にDNA二本鎖切断(DSB)を誘導する。転移性または再発性の大腸癌患者78名を対象とした。RAD51およびMRE11の発現を免疫組織化学によって調べ、臨床病理学的因子・化学療法効果との間の関連性を評価した。MRE11およびRAD51陰性症例は腫瘍縮小がより顕著であった。両方のタンパク質の陰性発現またはいずれかのタンパク質の陰性発現を有する症例は有意にPFSが延長していた。DSB修復タンパク質発現陰性の大腸癌症例は、化学療法に対してより感受性があり、DSB修復タンパク質発現は、大腸癌患者にとって有用な予後指標であり得る。

研究成果の概要(英文)：DNA intrastrand cross-linking agents such as oxaliplatin induce DNA double-strand breaks (DSBs) during DNA repair and replication. Seventy-eight patients with metastatic or recurrent colorectal cancer were included in the present study. The expression of DSB repair proteins such as RAD51 and MRE11 was investigated by immunohistochemistry, and associations between RAD51 and MRE11 expression and clinicopathological factors or chemotherapeutic effect were assessed. MRE11-negative cases and RAD51-negative cases achieved significantly better tumor reduction compared. Cases with negative expression of both proteins or negative expression of either protein had significantly longer PFS than cases with positive expression for both proteins. In conclusion, DSB repair protein expression-negative colorectal cancer cases may be more highly sensitive to chemotherapy, and thus DSB repair protein expression may be a useful prognostic indicator for colorectal cancer patients.

研究分野：消化器外科学

キーワード：大腸癌 化学療法 DNA修復

1. 研究開始当初の背景

(1)手術ができないあるいは再発した大腸癌に対する制癌剤治療

大腸癌に対する制癌剤治療は、ここ数年で格段の進歩を遂げた。治療に用いられるのは5-フルオロウラシル、オキサリプラチン、イリノテカンの殺細胞性制癌剤と抗VEGF抗体、抗EGFR抗体の分子標的薬剤を加えた主に5つの薬剤である。5つの薬剤を組み合わせることで順次用いることにより、切除不能あるいは再発から30か月を超える生存期間が得られるようになった。しかし、効果は症例により様々であり、非常に効果が得られる症例もあれば、効果なく不幸な転帰をたどる症例もある。治療前に効果を予測することは非常に重要であり、今まで様々な研究がなされてきた。化学療法の効果を予測するバイオマーカーとしては、欧米を中心に複数の報告がなされており、フルオロウラシル感受性におけるマイクロサテライト不安定性、抗EGFR抗体感受性におけるRAS遺伝子変異などは信頼されるバイオマーカーである。しかし、オキサリプラチンやイリノテカンに対しては信頼できるバイオマーカーはない。

(2)殺細胞効果はいかにして現れるのか

放射線による癌細胞の殺細胞効果はDNAの二本鎖切断によることがわかっている。またクロスリンカー型制癌剤であるオキサリプラチンも、そのDNA障害の修復や複製の過程で二本鎖切断を生じる。乳癌ではDNA二本鎖切断に対する修復能力の違いで、治療に対する感受性が異なることがわかっている。前述のごとく、制癌剤による細胞障害からの回復のためにはFanconi-BRCA経路が重要な役割を果たしている。BRCA関連癌はマイトマイシンCや白金製剤といったクロスリンカー型制癌剤に高感受性であることが示されている。個々の大腸癌における修復タンパク群の発現の状態が、乳癌同様、治療の効きやすさ効きにくさに関連している可能性がある。Fanconi-BRCA経路には、多種のタンパク質が関与している。BRCA1,2やMRN複合体、Rad51タンパク質などが、相同組換え修復のキープレイヤーである。相同組換え修復が不全状態にある大腸癌には、クロスリンカーや放射線が劇的に効果を上げる可能性があること。そしてそのサブグループを抽出するには、癌細胞の相同組換え能を表す指標を簡便に同定する方法が必要であるということである。

2. 研究の目的

進行した大腸癌に対する制癌剤は有用な治療であるが、全ての症例に腫瘍縮小効果を認めるわけではない。オーダーメイド治療のた

めには、効果を治療前に予測するバイオマーカーの探索が急務である。クロスリンカー型制癌剤による癌細胞の殺細胞効果はDNAの二本鎖切断による。その修復が欠損すると治療に高感受性となる。そのため、個々の大腸癌における修復タンパク群の状態が、治療効果と関連している可能性がある。

3. 研究の方法

(1)大腸癌の化学療法例、進行下部直腸癌例とも、すでに治療効果や予後が分かっており、治療前の検体が得られる症例を対象とする。2007年から2013年までの大腸癌手術症例は517例、切除不能因子を有する進行再発大腸癌は90例であった。そのうち70例において一次治療としてmFOLFOX6 / XELOX + bevacizumab療法が施行された。治療効果判定はRECISTに準じて行った。治療効果は一次治療の最良治療効果を化学療法前後の標的病変の縮小比を用いて評価した。エンドポイントは無増悪生存期間(PFS)および全生存期間(OS)とし、DNA修復蛋白発現との関連性の検討を行った。

(2)相同組換え修復のリコンビナーゼであるRAD51は放射線照射や制癌剤曝露などにより生じるDNA二本鎖切断損傷により、核内の修復装置に集結しフォーカスを形成する。そして、その程度はDNA修復能を反映する。また、DNA二本鎖切断の断端をトリミングするMRN複合体の一員であるMRE11遺伝子の変異も大腸癌において報告されており、大腸癌において治療感受性を規定する可能性がある。治療前検体を用いて、免疫組織化学染色により修復タンパク質の発現を検討し、臨床病理学的特徴や制癌剤効果との関連性を検討する。RAD51 AntibodyはmAb clone 3C10、MRE11 AntibodyはmAb clone 12D7を用いた。

4. 研究成果

年齢中央値は64.5歳。男女比46:24。原発巣占拠部位は右側大腸18例、左側大腸52例。腫瘍径中央値は50mm。転移部位は肝38例、肺19例、腹膜10例、リンパ節8例であった。分化型が63例を占めた。FOLFOXベースが50例でXELOXベースが20例。施行回数中央値は10コース。全生存期間中央値32.5か月、無増悪生存期間中央値が10.9か月であった。オキサリプラチンなどのDNA鎖内架橋剤は、DNA修復および複製中にDNA二本鎖切断(DSB)を誘導する。MRE11およびRAD51陰性症例は腫瘍縮小がより顕著であった。RAD51陰性群は陽性群と比較し、有意にPFSが延長している。MRE11陰性群で陽性群と比較し、PFSに統計学的有意差は認めない(図1)。

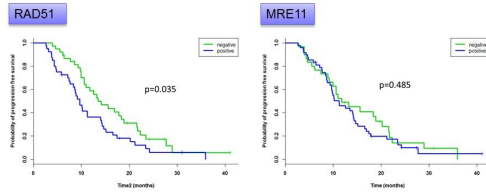


図1 DNA修復蛋白発現とPFS

RAD51 陰性群は陽性群と比較し、有意に OS が延長している (図 2)。

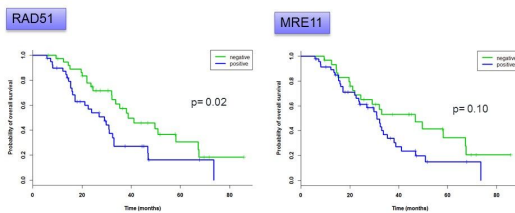


図2 DNA修復蛋白発現とOS

また、これら 2 つのタンパク質は同一経路上に存在するため相加効果があるとの仮説を立て (図 3)、スコアを定義し検討した。

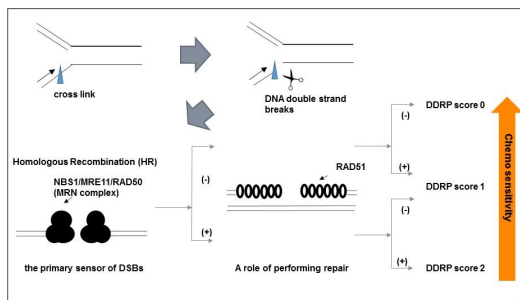


図3 タンパク発現スコアと化学療法効果の予測の仮説

DNA 修復スコアにより、予後をより正確に予測し得た (図 4)。

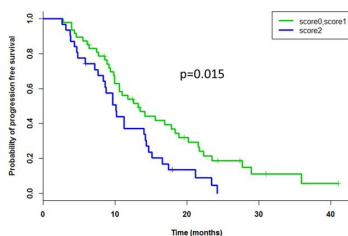


図4 DDRP scoreとPFS

DSB 修復タンパク質発現陰性の大腸癌症例は、化学療法に対してより感受性があり、DSB 修復タンパク質発現は、大腸癌患者にとって有用な予後指標であり得る。

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 2 件)

Ihara K, Yamaguchi S, Ueno N, Tani Y, Shida Y, Ogata H, Domeki Y, Okamoto K, Nakajima M, Sasaki K, Tsuchioka T, Mitomi H, Kato H. Expression of DNA double-strand break repair proteins predicts the response and prognosis of colorectal cancer patients undergoing oxaliplatin-based chemotherapy. *Oncol Rep*. 2016 Mar;35(3):1349-55. doi: 10.3892/or.2015.4488. 査読あり

Ihara K, Yamaguchi S, Shida Y, Ogata H, Domeki Y, Okamoto K, Nakajima M, Sasaki K, Tsuchioka T, Kato H. Poor nutritional status before and during chemotherapy leads to worse prognosis in unresectable advanced or recurrent colorectal cancer. *Int Surg*. 2015 Jun 17. [Epub ahead of print] 査読あり

[学会発表] (計 10 件)

山口悟、志田陽介、井原啓佑、横山悠、尾形英生、勝又大輔、伊藤淳、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：大腸癌腹膜播種に対する治療成績：播種巣切除の予後への影響 第 54 回日本癌治療学会学術集会 平成 28 年 10 月 20 日 パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

井原啓佑、山口悟、志田陽介、尾形英生、中島政信、佐々木欣郎、加藤広行：切除不能進行・再発大腸癌原発巣における MRE11 の発現と化学療法治療効果の検討 第 71 回日本消化器外科学会総会 平成 28 年 7 月 16 日 アステイ徳島 (徳島県徳島市)

井原啓佑、山口悟、志田陽介、尾形英生、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：切除不能進行・再発大腸癌原発巣におけるバイオマーカーとして MRE11 の発現は有用である 第 25 回日本癌病態治療研究会 平成 28 年 6 月 8 日 三井ガーデンホテル千葉 (千葉県千葉市)

井原啓佑、山口悟、志田陽介、尾形英生、百目木泰、岡本健太郎、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：DSB 修復タンパク発現パターンは切除不能進行再発大腸癌におけるバイオマーカーとして有

用である 第 116 回日本外科学会定期学術集会 平成 28 年 4 月 16 日 大阪国際会議場 (大阪府大阪市)

山口悟、尾形英生、井原啓佑、志田陽介、岡本健太郎、百目木泰、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：進行直腸癌に対する集学的治療：術前化学療法と術前化学放射線療法の検討 第 116 回日本外科学会定期学術集会 平成 28 年 4 月 14 日 大阪国際会議場 (大阪府大阪市)

井原啓佑、山口悟、志田陽介、尾形英生、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：進行再発大腸癌における DSB 修復タンパクの発現は予後を規定する 第 49 回制癌剤適応研究会 平成 28 年 3 月 25 日 会津東山温泉御宿東鳳 (福島県会津若松市)

井原啓佑、山口悟、志田陽介、尾形英生、岡本健太郎、百目木泰、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：切除不能進行再発大腸癌の予後因子として栄養指標は有用である 第 31 回日本静脈経腸栄養学会学術集会 平成 28 年 2 月 26 日 福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

井原啓佑、山口悟、志田陽介、尾形英生、百目木泰、加藤広行：左側大腸癌における DSB 修復タンパクの発現は予後を規定する 第 70 回日本大腸肛門病学会学術集会 平成 27 年 11 月 13 日 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)

井原啓佑、山口悟、志田陽介、尾形英生、百目木泰、岡本健太郎、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：切除不能進行再発大腸癌におけるバイオマーカーとしての DSB 修復タンパク発現 第 53 回日本癌治療学会学術集会 平成 27 年 10 月 29 日 国立京都国際会館 (京都府京都市)

井原啓佑、山口悟、大友悠、志田陽介、尾形英生、中島政信、佐々木欣郎、土岡丘、加藤広行：切除不能進行・再発大腸癌原発巣における RAD51 の発現と化学療法治療効果の検討 第 115 回日本外科学会定期学術集会 平成 27 年 4 月 16 日 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)

研究者番号： 7 0 2 2 4 5 3 2

中島 政信 (NAKAJIMA, Masanobu)
獨協医科大学・医学部・准教授
研究者番号： 4 0 4 5 1 7 1 0

尾形 英生 (OGATA, Hideo)
獨協医科大学・医学部・講師
研究者番号： 8 0 5 2 4 9 4 1

志田 陽介 (SHIDA, Yosuke)
獨協医科大学・医学部・助教
研究者番号： 7 0 6 2 1 6 5 5

勝又 大輔 (KATSUMATA, Daisuke)
獨協医科大学・医学部・助教
研究者番号： 2 0 4 5 8 3 7 6
(平成 26 年度まで研究分担者)

井原 啓佑 (IHARA, Keisuke)
獨協医科大学・医学部・助教
研究者番号： 0 0 6 2 1 6 5 8
(平成 27 年度より研究分担者)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山口 悟 (YAMAGUCHI, Satoru)
獨協医科大学・医学部・准教授
研究者番号： 2 0 3 4 4 9 4 7

(2) 研究分担者

加藤 広行 (KATO, Hiroyuki)
獨協医科大学・医学部・教授