

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15551

研究課題名(和文) 直腸癌個別化医療に向けたDNA修復能に基づく治療効果及び有害事象予測指標の構築

研究課題名(英文) Establishment of a Predictive Index for Treatment Outcomes and Adverse Events Based on DNA Repair Capacity for Personalized Medicine for Rectal Cancer

研究代表者

今野 伸樹 (Imano, Nobuki)

広島大学・医系科学研究科(医)・助教

研究者番号：40815320

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は直腸癌に対する術前化学放射線療法を受ける患者の放射線感受性を評価し、治療効果及び有害事象を予測する評価指標の構築を目指すことである。直腸癌患者28例を前向きに登録し、放射線感受性と有害事象及び治療効果との関連を評価した。治療効果に関して28例中3例に病理学的完全奏効が得られており、同3例においては45Gy照射後の末梢血リンパ球中のH2AXフォーカス数が高い傾向が認められた。また有害事象に関しては、末梢血リンパ球中の染色体異常数と有害事象の重篤度に有意な相関が認められた。放射線感受性から治療効果及び有害事象を予測する新たな指標を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は化学放射線療法における急性期有害事象を個人の放射線感受性から予測する研究である。放射線感受性から放射線治療における有害事象を予測する試みは以前より行われてきたが、放射線感受性を測定するための解析が複雑で日常臨床に応用されていない。本研究では照射期間中の患者血液を採取することで、末梢血リンパ球中の染色体異常から放射線感受性の指標として、血液データから簡便に放射線感受性を測定する手法が開発した。そのため従来の報告と比較してより簡便に放射線感受性を予測することが可能となり、今後実臨床にも応用できる可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to evaluate radiosensitivity in patients receiving preoperative chemoradiation for rectal cancer and to develop an index to predict treatment outcomes and adverse events. We prospectively enrolled 28 patients with rectal cancer and evaluated the association between radiosensitivity and treatment outcomes and adverse events. Three of the 28 patients achieved pathologic complete response, and the H2AX focus counts in peripheral blood lymphocytes tended to be high in these three patients after 45 Gy irradiation. In terms of adverse events, there was a significant correlation between the number of chromosome aberrations in the peripheral blood lymphocytes and the severity of adverse events. A new index for predicting treatment outcomes and adverse events based on radiosensitivity was established.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：放射線治療

キーワード：放射線治療 染色体異常 DNA損傷 H2AX PNA-FISH 直腸癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線治療 (RT) による有害事象の予測に線量体積ヒストグラムが有用とされているが、有害事象の程度は、同程度の線量、照射体積の治療を受けた患者間でも個人差がある。これは個人の放射線感受性の違いによると考えられており、RT の有害事象予測のためには個人の放射線感受性を評価することが重要である。先行研究では、末梢血リンパ球 (PBL) の観察により、DNA 二本鎖切断部位に形成され DNA 損傷の指標となる γ -H2AX foci の数や、DNA 修復異常の指標である染色体異常 (CA) 数から測定した個人の放射線感受性と RT の有害事象に関係があることが報告されている。これらの研究では、患者の血液を採取し *in vitro* で照射することで放射線感受性を予測しているが、*in vitro* での照射では体外で血液を照射する設備が必要であり、また生体内での反応が反映されない。放射線治療による PBL 中の CA 数や γ -H2AX foci 数の *in vivo* での経時的な変化に関する報告や、有害事象との関連に関する報告はなく、照射後の患者の PBL から有害事象の予測指標を確立する事ができれば、血液採取のみで簡便に RT による有害事象を予測することが可能である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、RT 期間中の患者の照射前後の血液を採取し、*in vivo* での γ -H2AX foci 数および CA 数の変化を評価し、RT による治療効果、及び有害事象を血液検査のみで簡便に予測する手法を確立することである。また直腸癌における治療効果及び有害事象を予測し個別化医療を開発することである。

3. 研究の方法

放射線治療を行う患者の血液を採取し下記の検討を行った。

検討 1. 末梢血リンパ球中の染色体異常及び DNA 損傷の解析

放射線感受性の評価法として以下を用いる。

1. 免疫染色法によるガンマ H2AX フォーカスの経時的変化

2. PNA-FISH 法による照射後の染色体異常の経時的変化

治療計画 CT 前後、初回放射線治療前後、治療終了日の放射線治療前後の末梢血リンパ球を採取し、上記解析を行う。

検討 2. 直腸癌術前化学放射線療法の治療効果及び有害事象の評価

1. 治療効果の評価：病理医による手術検体の組織学的治療効果判定を用いる。

2. 有害事象の評価：急性期有害事象 (皮膚炎、直腸炎、腸炎、膀胱炎など)、晚期有害事象 (消化管出血・穿孔、腸閉塞、膀胱炎など)、周術期有害事象 (縫合不全、排便障害、排尿障害など) の評価を CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Effect) ver4.0 をもとに行う。客観的な評価を行うため、医師 2 名が独立して評価を行う。

検討 3. 治療効果および有害事象を予測する評価指標の確立

検討 1 における染色体異常やガンマ H2AX フォーカスの経時的変化と検討 2 における治療効果及び有害事象の関連を解析し、治療効果および有害事象の予測および具体的な評価指標の設定が可能かを検討する。

4. 研究成果

成果 ~ 直腸癌術前化学放射線療法の治療成績及び有害事象の臨床的予測因子の検討 ~

直腸癌術前化学放射線療法の治療成績、有害事象に関して臨床的な予測因子を解析するため当院で術前化学放射線療法を行った 54 例を対象に遡及的な解析を行った。その結果、病理学的完全奏効の因子として病期分類の T 因子が、無増悪生存割合の予測因子として血清 CEA の数値が、全生存割合の予測因子として、組織学的グレード分類及び血清 CEA の数値が優位な因子であることが示された。全生存割合に関しては組織学的グレード分類及び血清 CEA の数値に関して多変量解析でも優位な因子であった。

本研究成果を下記の学術集会にて報告した。

・ 2018.10.13 第 31 回日本放射線腫瘍学会

「直腸癌に対する TS-1 併用術前化学放射線療法の検討」

・ 2018.10.21 American Society for Radiation Oncology 60th annual meeting

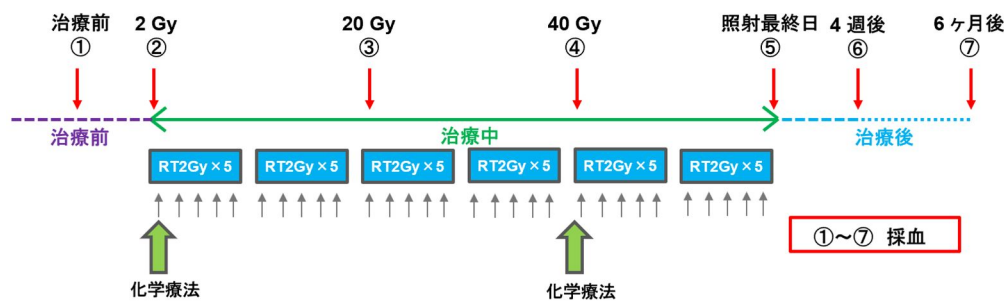
“ The Efficacy and Tolerability of S-1 in the Treatment of Preoperative Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer. ”

また、本研究の成果を Journal of Radiation Research 誌に報告した。

・ Imano N, Murakami Y, Kubo K, et al. Efficacy and tolerability of preoperative chemoradiotherapy with S-1 alone for locally advanced rectal cancer. J Radiat Res. 2021;62(2):300-308.

成果 ~ 放射線治療による末梢血リンパ球の染色体異常及び H2AX フォーカスの動態解明 ~
 照射期間中の染色体異常と H2AX フォーカス経時的变化を確認するため、直腸癌患者の症例登録と同時に食道癌患者の症例を登録した。食道癌患者においては化学療法の骨髄抑制確認のため定期的に採血を行うため、直腸癌患者よりも多くのポイントで採血検体を得ることが可能であるため同時に研究を行った。2017年9月から2019年10月まで根治的化学放射線療法を施行した18例の食道癌患者を前向きに登録し、下記のスケジュールで治療及び検体採取を行った。

◆ 試験デザイン

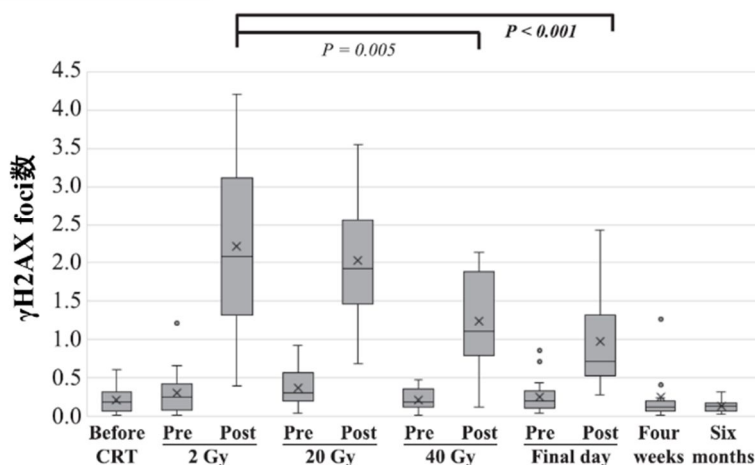


・放射線治療による γ -H2AX foci 数の体内動態の解明

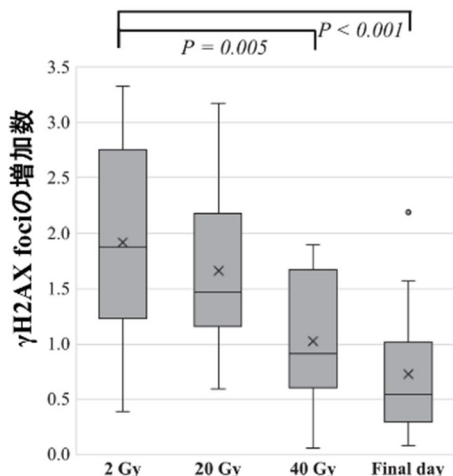
治療期間中の γ -H2AX foci 数の推移に関して、2 Gy の RT により RT 前の γ -H2AX foci 数は CRT 期間中に変化しなかったが、RT 後の γ -H2AX foci 数及び1回の照射による γ -H2AX foci 数の増加は RT の累積線量の増加とともに減少することを発見した。

RT 期間中の in vivo での γ -H2AX foci 数及び1回の照射による増加量に関する経時的なデータの報告はこれまでになく、累積線量の増加と共に γ -H2AX foci 減少するメカニズムは明らかになっていないが、DNA の修復応答が変化していることが示唆される結果であった。

γ H2AX foci数の体内動態



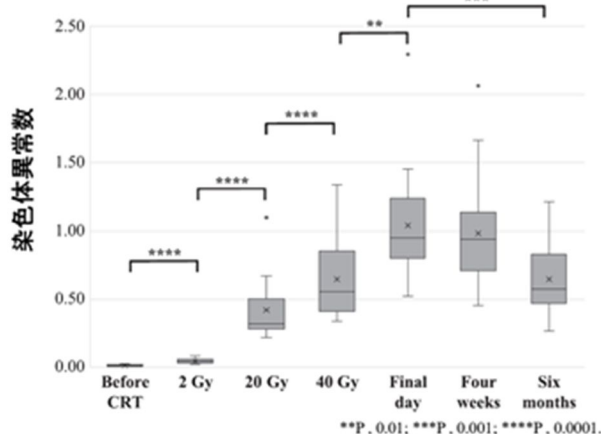
1回の照射による γ H2AX foci の増加数の経時変化



・放射線治療による染色体異常数の体内動態の解明

PBL1 細胞あたりの CA 数は、CRT 中に増加し、終了後 6 ヶ月で約 60%まで経時的に減少した。

染色体異常数の体内動態



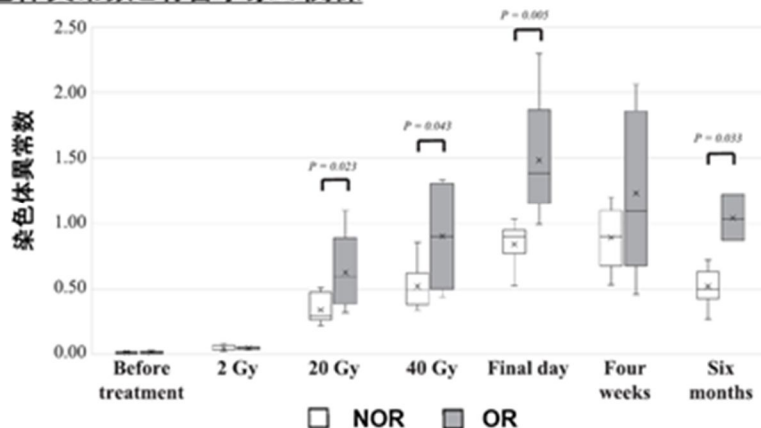
全例 1 回 2Gy の照射で、照射体積もほとんど同様であったの一方で、CA 数には大きな個人差が観察され、個人の放射線感受性の違いを反映していることが示唆される結果であった。

・急性期有害事象の予測指標の確立

本研究に登録された 18 例の食道癌患者のうち、5 例で Grade 3 の急性期有害事象を認め（食道炎：4 例、肺臓炎：1 例）これらの症例を Overreactor (OR) と定義した。残りの 13 例では急性期有害事象 Grade2 以下で、Non-overreactor (NOR) と定義した。食道、肺、体全体の照射線量及び照射体積は OR 群と NOR 群で有意差を認めなかった。一方、OR 群の CA 数は、NOR グループの CA 数と比較して有意に高値であった。-H2AX foci 数と急性期有害事象との有意な関連は認められなかった。

Grade3 以上の急性期有害事象は発症した 5 例全例で累積線量 20Gy 以降に発症しており、累積線量 20 Gy 時点で CA 数に有意差が認められていることから、累積線量 20 Gy での CA 数が、食道癌患者における CRT の急性期有害事象の予測指標となる可能性が示唆された。

染色体異常数と有害事象の関係



本研究成果を下記の学術集会で報告した。

・ 2019.09.15-18 American Society for Radiation Oncology 61th annual meeting
 “Analysis of Chromosomal aberrations and H2AX foci in peripheral blood lymphocytes induced by chemoradiotherapy of patients with esophageal cancer.”

・ 2020.02.20 放射線災害・医科学拠点 第 4 回国際シンポジウム
 “Novel index to predict non-hematologic acute toxicities caused by chemoradiotherapy in esophageal cancer patients”
 Excellent Poster Session Award 受賞

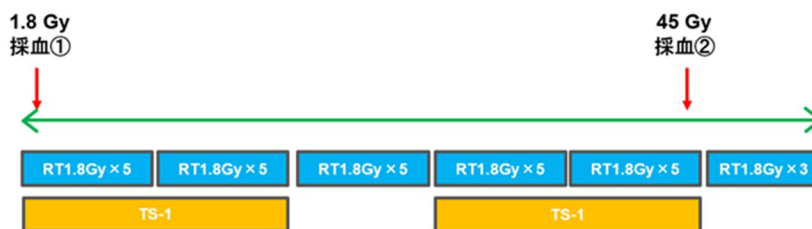
・ 2020.10.25-28 American Society for Radiation Oncology 62th annual meeting
 “Association between acute toxicities of chemoradiotherapy and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes in esophageal cancer patients.”

また本研究の成果を Radiation Research 誌に報告した。

・ Imano N, Nishibuchi I, Kawabata E, et al. Evaluating Individual Radiosensitivity for the Prediction of Acute Toxicities of Chemoradiotherapy in Esophageal Cancer Patients. Radiat Res. 2021;195(3):244-252.

成果 ~ 直腸がん化学放射線療法における DNA 修復能を用いた予測指標の確立 ~
2017 年 9 月から 2021 年 10 月まで、術前化学放射線療法を施行した 32 例の直腸癌症例から本研究の参加に同意を得た。治療に同意取得後、病状や本人の希望に治療を完遂できなかった 4 例を除き、28 例で下記のスケジュールで治療及び検体採取を行った。

◆ 試験デザイン



治療効果として 28 例中 3 例に病理学的完全奏効が得られており、同 3 例においては 45Gy 照射後の末梢血リンパ球中の H2AX フォーカス数が高い傾向が認められた。また、有害事象に関しては、末梢血リンパ球中の染色体異常数と有害事象の重篤度に有意な相関が認められた。本結果に関しては学術誌投稿準備中であるため、詳細なデータに関しては学術誌上で報告する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Imano Nobuki, Murakami Yuji, Kubo Katsumaro, Kawahara Daisuke, Takeuchi Yuki, Nishibuchi Ikuno, Kimura Tomoki, Kochi Masatoshi, Takakura Yuji, Shimizu Wataru, Egi Hiroyuki, Uegami Shinnosuke, Ohge Hiroki, Takahashi Shinya, Ohdan Hideki, Nagata Yasushi | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 Efficacy and tolerability of preoperative chemoradiotherapy with S-1 alone for locally advanced rectal cancer | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Radiation Research | 6. 最初と最後の頁 300~308 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jrr/rraa117 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Imano Nobuki, Nishibuchi Ikuno, Kawabata Emi, Kinugasa Yasuha, Shi Lin, Sakai Chiemi, Ishida Mari, Sakane Hiroaki, Akita Tomoyuki, Ishida Takafumi, Kimura Tomoki, Murakami Yuji, Tanaka Kimio, Horikoshi Yasunori, Sun Jiying, Nagata Yasushi, Tashiro Satoshi | 4. 巻 195 |
| 2. 論文標題 Evaluating Individual Radiosensitivity for the Prediction of Acute Toxicities of Chemoradiotherapy in Esophageal Cancer Patients | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Radiation Research | 6. 最初と最後の頁 244-252 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1667/RADE-20-00234.1 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 7件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Ikuno Nishibuchi, Yasuha Kinugasa, Lin Shi, Chiemi Sakai, Mari Ishida, Hiroaki Sakane, Yuji Murakami, Yasushi Nagata, Satoshi Tashiro |
| 2. 発表標題 Novel index to predict non-hematologic acute toxicities caused by chemoradiotherapy in esophageal cancer patients |
| 3. 学会等名 放射線災害・医科学拠点 第4回国際シンポジウム（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Ikuno Nishibuchi, Emi Kawabata, Yasuha Kinugasa, Chiemi Sakai, Mari Ishida, Tomoyuki Akita, Tomoki Kimura, Yuji Murakami, Yasushi Nagata, and Satoshi Tashiro |
| 2. 発表標題 Association between acute toxicities of chemoradiotherapy and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes in esophageal cancer patients. |
| 3. 学会等名 American Society for Radiation Oncology 62nd annual meeting（国際学会） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Yasushi Nagata, Satoshi Tashiro |
| 2. 発表標題 Association of non-hematologic acute toxicities of chemoradiotherapy in esophageal cancer patients with DNA damage |
| 3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Ikuno Nishibuchi, Tsubasa Kameoka, Masanori Ochi, Yuki Takeuchi, Ippei Takahashi, Tomoki Kimura, Yuji Murakami, Satoshi Tashiro, Yasushi Nagata |
| 2. 発表標題 A novel index to predict non-hematologic acute toxicities caused by chemoradiotherapy in esophageal cancer patients |
| 3. 学会等名 第79回日本医学放射線学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 今野伸樹、村上祐司、三好章太、久保克麿、勝田剛、竹内有樹、西淵いくの、永田靖 |
| 2. 発表標題 局所進行直腸癌に対するTS-1併用術前化学放射線療法の検討 |
| 3. 学会等名 第24回広島放射線治療研究会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Lin Shi, Ikuno Nishibuchi, Yoshinori Adachi, Yuki Takeuchi, Ippei Takahashi, Tomoki Kimura, Yuji Murakami, Kentaro Miki, Akito Saito, Satoshi Tashiro, Yasushi Nagata |
| 2. 発表標題 Analysis of Chromosomal aberrations and H2AX foci in peripheral blood lymphocytes induced by chemoradiotherapy of patients with esophageal cancer. |
| 3. 学会等名 American Society for Radiation Oncology 61st annual meeting (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 今野伸樹、西淵いくの、亀岡翼、越智雅則、竹内有樹、高橋一平、木村智樹、村上祐司、時林、田代聡、永田靖 |
| 2. 発表標題 食道癌化学放射線療法の有害事象予測指標としての末梢血リンパ球DNA損傷と染色体異常の検討 |
| 3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第32回学術大会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Ikuno Nishibuchi, Yasuha Kinugasa, Lin Shi, Chiemi Sakai, Mari Ishida, Hiroaki Sakane, Yuji Murakami, Yasushi Nagata, Satoshi Tashiro |
| 2. 発表標題 Novel index to predict non-hematologic acute toxicities caused by chemoradiotherapy in esophageal cancer patients |
| 3. 学会等名 放射線災害・医科学拠点 第4回国際シンポジウム(国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Ikuno Nishibuchi, Emi Kawabata, Yasuha Kinugasa, Chiemi Sakai, Mari Ishida, Tomoyuki Akita, Tomoki Kimura, Yuji Murakami, Yasushi Nagata, and Satoshi Tashiro |
| 2. 発表標題 Association between acute toxicities of chemoradiotherapy and chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes in esophageal cancer patients. |
| 3. 学会等名 American Society for Radiation Oncology 62nd annual meeting(国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Lin Shi, Ikuno Nishibuchi, Yoshinori Adachi, Yuki Takeuchi, Ippei Takahashi, Tomoki Kimura, Yuji Murakami, Kentaro Miki, Akito Saito, Satoshi Tashiro, Yasushi Nagata |
| 2. 発表標題 Analysis of Chromosomal aberrations and H2AX foci in peripheral blood lymphocytes induced by chemoradiotherapy of patients with esophageal cancer. |
| 3. 学会等名 American Society for Radiation Oncology 61st annual meeting(国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Nobuki Imano, Yasuha Kinugasa, Emi Kawabata, Chiemi Sakai, Mari Ishida, Ikuno Nishibuchi, Yasushi Nagata, Satoshi Tashiro |
| 2. 発表標題 Evaluating individual radiosensitivity to predict acute toxicities caused by chemoradiotherapy in esophageal cancer patients |
| 3. 学会等名 放射線災害・医科学拠点 第6回国際シンポジウム(国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|