

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16367

研究課題名（和文）大腸癌における蛍光X線分析を用いたoxaliplatinの腫瘍組織中動態の解明

研究課題名（英文）Quantitative evaluation of the intratumoral distribution of platinum in colorectal cancer via synchrotron radiation X-ray fluorescence spectrometry

研究代表者

永吉 絹子（NAGAYOSHI, Kinuko）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：90761015

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）：本研究では蛍光X線分析という工学的アプローチを用いて、oxaliplatinを投与した大腸癌の腫瘍組織中の白金や生体内必須元素の局所かつ微量な分布を可視化することで、抗癌剤の腫瘍内動態や細胞活性の変化を明らかにすることを目的としている。

oxaliplatinを含む術前治療を受けた進行大腸癌30例の切除組織標本に対して蛍光X線分析を行い、腫瘍上皮と間質での白金の集積を評価した。腫瘍上皮では腫瘍の治療効果に伴う変性部位に白金の集積が多く、逆に腫瘍間質では治療効果の乏しい症例ほど集積が多かった。化学療法中に腫瘍組織中の白金分布を測定することで治療効果あるいは抗癌剤耐性を予測できると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現時点ではoxaliplatinを用いた化学療法に対する治療反応性を予測する確実な手段は明らかでなく、有効性と安全性の高い化学療法を実現するためにも、最適な治療選択のための抗癌剤感受性予測マーカーの開発が必要である。

本研究では蛍光X線分析によって腫瘍組織中の薬物動態や細胞活性の変化を明らかにすることで、oxaliplatinを用いた化学療法に対する個々の治療反応性を予測する手段の確立と耐性獲得の機序の解明につなげ、治療効果の異なる組織中の薬物動態を工学的手法で得られた白金のスペクトルから明らかにすることで、これまで間接的にしか議論されていない治療反応性に科学的根拠をもたせることが可能になった。

研究成果の概要（英文）：The platinum-based chemotherapeutic drug oxaliplatin is a vital component of therapeutic regimens for colorectal cancer. The development of chemoresistance, however, is a major factor limiting its use. Here, to better understand the therapeutic efficacy of oxaliplatin, synchrotron radiation X-ray fluorescence (SR-XRF) analysis was used to investigate the intratumoral distribution of oxaliplatin in human colorectal cancer tissue. SR-XRF revealed high platinum concentration in the tumor stroma in tissues from patients with limited response to oxaliplatin therapy, indicating a correlation between stromal tissue platinum accumulation and oxaliplatin resistance. The findings further suggest that SR-XRF analysis can predict response to oxaliplatin-based therapy.

研究分野：医歯薬学

キーワード：大腸癌 oxaliplatin 白金製剤 治療抵抗性 治療効果予測 蛍光X線分析 SPring-8

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Oxaliplatinは第三世代白金錯体系抗悪性腫瘍薬であり、作用機序はDNA塩基との架橋形成によるDNA合成阻害、蛋白合成阻害と考えられている。進行再発大腸癌に対しoxaliplatinを加えたFOLFOX療法で有意な生存期間の延長を達成し(de Gramont A, J Clin Oncol, 2000)、術後補助化学療法においても無病生存期間を有意に延長することが示され(Andre T, New Eng J Med, 2004)、oxaliplatinは大腸癌治療における主要薬剤の一つとなっている。しかしながら、FOLFOX療法の奏効率は50%程度であり(Goldenberg RM, J Clin Oncol, 2004)、さらに、oxaliplatinの投与により好中球減少症や高頻度の末梢神経障害などの副作用が治療継続を困難にする要因にもなっている。現時点ではoxaliplatinを用いた化学療法に対する治療反応性を予測する確実な手段は明らかにされておらず、有効性と安全性の高い化学療法を実現するためにも、最適な治療選択のための抗癌剤感受性予測マーカーの開発が必要とされている。

また、近年抗癌剤に関してリポソームやミセルなどを用いたdrug delivery system(DDS)の研究が盛んに行われており、大腸癌治療におけるDDSの有用性も示されている(Doi Y, Cancer Sci, 2010)。そこでDDSを臨床で応用するためには、薬物自体の作用部位での濃度や分布を正確に評価することが求められる。しかしながら、薬物自体の腫瘍組織内での局所かつ微量分布を明らかにすることは非常に難しく、様々な手法を用いた研究が行われている。

### 2. 研究の目的

oxaliplatinを含む化学療法を行った大腸癌切除組織に対して蛍光X線分析を行うことで、腫瘍組織内における白金つまりoxaliplatinや生体内必須金属元素の局所かつ微量な分布を可視化し、腫瘍組織中の薬物動態や細胞活性の変化を明らかにすることを目的とする。それにより、oxaliplatinを用いた化学療法に対する個々の治療反応性を予測する手段の確立と、耐性獲得の機序の解明につながるものと期待される。

### 3. 研究の方法

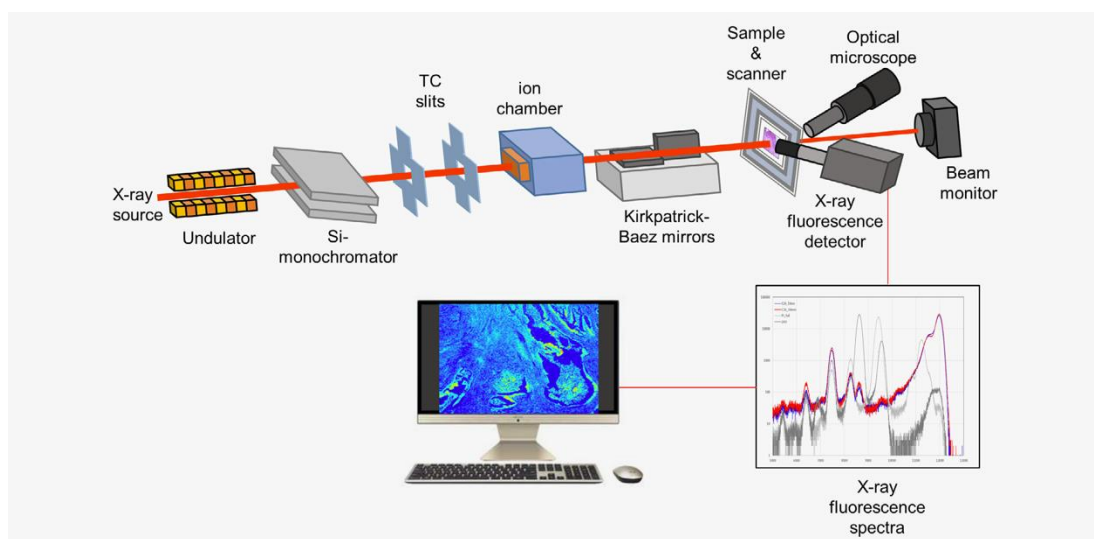
#### ①大腸癌組織中の白金や生体内必須金属元素の分布と抗腫瘍効果との相関の検討

術前に oxaliplatin を含む抗癌剤治療を受けた患者の切除組織標本に対して、大型放射光施設 SPring-8 で蛍光 X 線分析測定を行い、腫瘍組織中の白金(Pt)および生体内必須元素の分布を可視化する。

#### ②抗癌剤感受性予測因子の同定

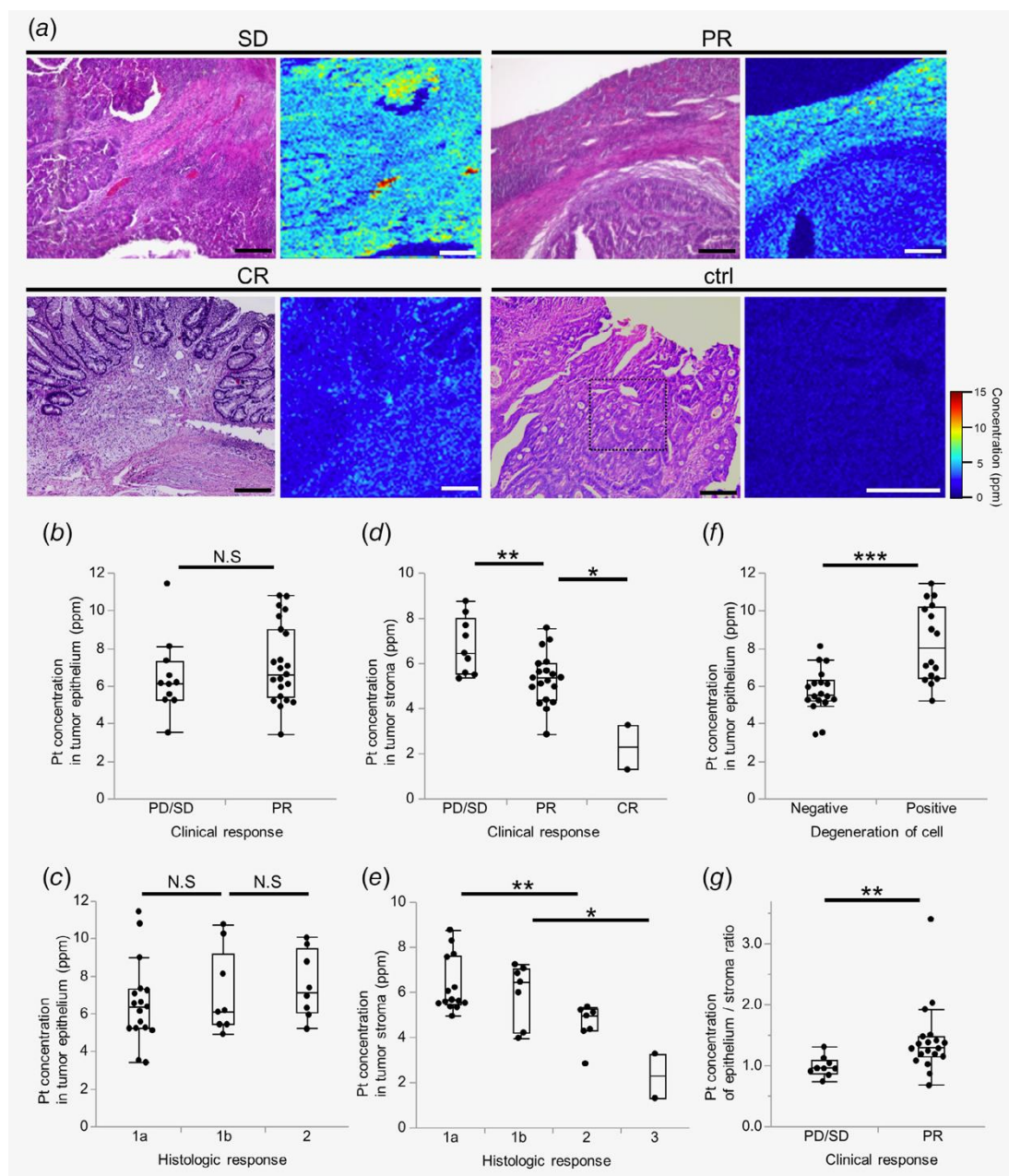
蛍光 X 線分析によって得られた白金や生体内必須元素の分布と様々な臨床データを評価することで抗癌剤感受性の予測因子を同定する。マイクロアレイを用いて oxaliplatin を使用した進行大腸癌患者の切除標本における遺伝子発現プロファイル解析を行い、化学療法の効果予測因子の同定を行う。

### 4. 研究成果



術前に oxaliplatin を含む抗癌剤治療を受けた進行大腸癌の切除組織標本 30 例に対して、SPring-8 で蛍光 X 線分析測定を行った (上図)。腫瘍組織中の Pt 分布に関して、腫瘍上皮では腫瘍の治療効果に伴う変性部位に白金の集積が多く、逆に腫瘍間質では治療効果の乏しい症例ほど集積が多い結果であった(下図)。様々な臨床病理学的背景を含めた多変量解析においても、腫瘍間質における Pt の集積が唯一の独立予後予測因子であった。また、Pt 以外にも Fe や Zn, Cu, K, Ca といった生体内必須元素との集積の相関を検討したところ、治療効果のみられた症例では Pt と Cu の分布に正の相関があり、逆に治療効果に乏しい症例では負の相関が認められた。Cu の輸送体が白金製剤の取り込みに関与しているとの報告があり、本研究の結果と併せて、Cu の輸送体が白金製剤の治療抵抗性に影響を与えていることが示唆された。以上のことから、白金

製剤を含むレジメンで治療中に病変部の生検組織を評価することで、治療効果を判定・予測することが可能であると考えられる。これらの結果を原著論文として発表した。



また、マイクロアレイを用いて oxaliplatin を使用した進行大腸癌の切除標本における遺伝子発現プロファイル解析を行い、治療効果により ROS (Reactive oxygen species) 関連遺伝子の発現の変動が認められたことから、ROS の発現が抗癌剤感受性に影響していると考えられた。術前の腫瘍組織での ROS 関連遺伝子発現を解析することで、大腸がん治療の key drug である白金製剤の治療効果を予測することが可能と考える。

さらに、現在大腸癌マウスモデルを用いた実験を進めており、oxaliplatin 感受性/耐性細胞を同所移植したマウスに対して、oxaliplatin 投与後の腫瘍及び周囲間質における白金集積の経時的変化を蛍光 X 線分析で評価することで、治療効果に伴う組織の変性や新生といった癌細胞の動態と、間質から癌細胞への薬剤送達や排出の機序を解析・可視化し、抗癌剤耐性に関わる薬剤送達や排出機序の解明を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Koba Ryo, Fujita Hayato, Nishibori Maiko, Saeki Kiyoshi, Nagayoshi Kinuko, Sadakari Yoshihiko, Nagai Shuntaro, Sekizawa Oki, Nitta Kiyofumi, Manabe Tatsuya, Ueki Takashi, Ishida Tatsuhiro, Oda Yoshinao, Nakamura Masafumi	4. 巻 146
2. 論文標題 Quantitative evaluation of the intratumoral distribution of platinum in oxaliplatin treated rectal cancer: In situ visualization of platinum via synchrotron radiation X ray fluorescence spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2498 ~ 2509
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ijc.32592	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木庭遼、藤田逸人、西堀麻衣子、永吉絹子、貞苺良彦、永井俊太郎、関澤央輝、新田清文、大内田研宙、大塚隆生、植木隆、石田竜弘、中村雅史
2. 発表標題 Oxaliplatin投与後の大腸癌組織における蛍光X線分析 - 組織内の白金分布と治療効果との関連性の検討 -
3. 学会等名 日本分析化学会 第79回分析化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木庭遼、藤田逸人、西堀麻衣子、永吉絹子、貞苺良彦、永井俊太郎、関澤央輝、新田清文、大内田研宙、大塚隆生、植木隆、石田竜弘、中村雅史
2. 発表標題 腫瘍間質における直腸癌L-OHP抵抗性の誘導：放射光蛍光X線を用いた白金分布分析
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木庭遼、植木隆、西堀麻衣子、石田竜弘、永吉絹子、貞苺良彦、藤田逸人、永井俊太郎、大内田研宙、大塚隆生、中村雅史
2. 発表標題 Oxaliplatin投与後直腸癌における組織中の白金分布と抗腫瘍効果との関連性の検討
3. 学会等名 第55回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----