

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 16 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591461

研究課題名（和文） 食道癌術前化学療法の治療効果予測

研究課題名（英文） Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in esophageal cancer patients

研究代表者

下地 英明（SHIMOJI HIDEAKI）

琉球大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：30305205

研究成果の概要（和文）：食道癌の術前化学療法の前・後で末梢血中循環癌細胞量と血中CEAおよびSCC抗原のメッセンジャーRNA量の測定を行い、これで食道癌術前化学療法の治療効果予測が可能か検討をした。8名の対象患者の分析が行われた。Cell Search 分析法による末梢血中循環癌細胞の測定と血中CEA抗原メッセンジャーRNAは検出されなかった。血中SCC抗原メッセンジャーRNAは全例に検出され、術前化学療法の前後で変動を認めたが、治療効果予測を行うには至らなかった。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to evaluate the prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in esophageal cancer patients. Eight patients were enrolled in this study. In these patients, Circulating Tumor Cells were not detected by Cell Search Method. And CEA m-RNA levels were not detected by RT-PCR. SCC m-RNA levels were detected in all patients, but we could not defined the relationship between the expression of SCC m-RNA and effectiveness of the neoadjuvant chemotherapy in esophageal cancer patients.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：食道外科学

1. 研究開始当初の背景

これまで我々は、進行食道癌の治療成績の改善を目的に集学的治療の一環として、5-FU・アドリアマイシン・ネダプラチン3剤併用化学療法（5-FU/ADM/Nedaplatin療法）による術前化学療法を施行し、約50%の奏効率を認め、その有用性を報告してきた。しかしながら同化学療法無効例が約半数存

在することも事実であり、そのような症例に対しては、5-FU/ADM/Nedaplatin療法を施行することなく、他の治療法を選択することが望ましいが、現時点では化学療法の治療効果を予想するのは困難である。

一方、各種の固形癌患者において、末梢血中循環癌細胞の存在が、再発や予後に関連することが報告されている。また、転移性乳癌

患者においては、末梢血中循環癌細胞の存在が再発や予後に関係するのみならず、化学療法前後での変化が、抗がん剤の効果、さらにOS, PFS での生存期間を予測できるとの報告がなされている。

食道癌においても、抗癌剤治療前後での末梢血中循環癌細胞の変化が、抗癌剤の効果予測に有用であることが実証できれば、治療法選択の有効な手段となり得ると考えられた。

2. 研究の目的

食道癌の術前化学療法の前・後で末梢血中循環癌細胞量と血中CEAおよびSCC抗原のメッセンジャーRNA量の測定を行い、これで食道癌術前化学療法の治療効果予測が可能かどうかを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 研究デザイン

前向き臨床試験。本研究は2010年7月に琉球大学臨床研究倫理審査委員会の承認を得た。

(2) 対象患者と方法

琉球大学医学部附属病院第一外科で治療を開始した、癌の既往の無い食道扁平上皮癌 stage II/III の患者で、術前化学療法を受け、文書で試験参加の同意を得られた患者を適格とした。予定症例数は30名とした。

対象患者より術前化学療法を行う際に、計画にしたがって、末梢静脈より血液検体を採取し血中CEAおよびSCC抗原のメッセンジャーRNAの定量とCell Search 分析法による末梢血中循環癌細胞検出を行うとともに、化学療法の臨床的効果判定を行い、比較検討した。

血液検体採取及び臨床的治療効果判定時期



(3) 血中循環癌細胞測定法

①血中CEA及びSCC抗原のメッセンジャーRNA定量

EDTA 入り採血管を用い、末梢静脈より採血を行い、採血後2時間以内に解析を開始した。血液より専用試薬を用い直接、total RNA

を抽出 (High Pure RNA Isolation Kit)。得られた total RNA を鋳型に、cDNA を合成 (Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit)、SCC-, CEA-mRNA の特異プローブを用いて定量的PCRを施行した (LightCycler®480 System II 使用機材)。SCC-, CEA-mRNA の測定に使用したプローブおよびプライマーを表1に示す。

表1. リアルタイムPCR 定量系のプローブ、プライマー配列

SCC mRNA
Probe: Roche Universal ProbeLibrary #59
L primer: AGGAGGGGTGGACACGAC
R primer: TTGCGTGCCATCTCATACA
CEA mRNA
Probe: Roche Universal ProbeLibrary #57
L primer: ACCACAGTCACGACGATCAC
R primer: GGAGTTGTTGCTGGTGATGA

定量的PCRの反応条件は、95°Cを10分行った後、95°Cで10秒、60°Cで30秒、72°Cで1秒の反応を45サイクルとした。定量基準はGAPDHに対する比較Ct法にて評価・解析を行った。

②Cell Search 分析法

専用のCellSave 保存管にて採血を行い、採血後、速やかに院内に常駐するSRL 職員に提出した。

4. 研究成果

(1) 対象患者

8名の対象患者が登録された。対象患者の内訳は、男性6例、女性2例。登録時の平均年齢は66.3歳(57歳~77歳)であった。登録時のcStageは、cStage II 4例、cStage III 3例、cStage IV 1例で、T因子は、T2 4例、T3 3例、T4 1例であった。N因子は、N0 4例、N1 2例、N2 1例、N3 1例であった。術前化学療法は、8例中6例で予定2コース施行された。2例では、有害事象のため、1コースで終了となった。また患者の希望により治療を化学放射線治療に変更した1例を除き、他の7例では予定通り術前化学療法後食道切除が施行された。患者の背景を表2に示す。

表 2. 登録症例

性 別	年 齢	Stage	T	N	化療 回数	切 除
1 男	63	III	T3	N2	2	有
2 男	67	II	T2	N0	2	有
3 女	77	II	T2	N0	1	無
4 男	72	II	T2	N0	2	有
5 男	74	IV	T4	N1	2	有
6 男	59	III	T3	N3	2	有
7 男	57	III	T3	N1	2	有
8 女	61	II	T2	N0	1	有

(2) 測定結果

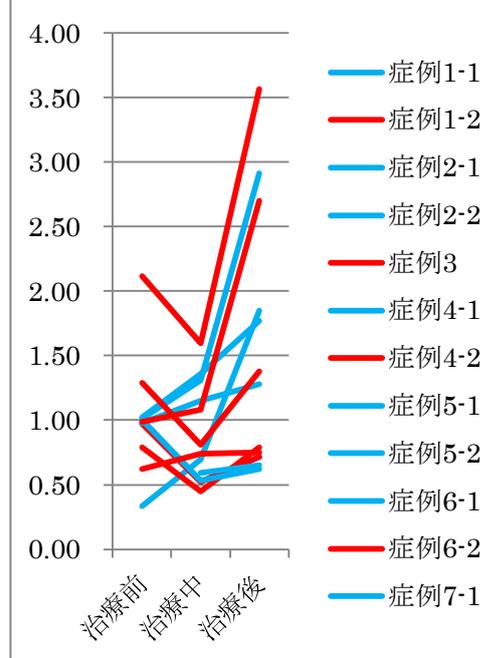
上記 8 名の対象の食道癌患者の検体にて、Cell Search 分析法による末梢血中循環癌細胞の測定を計 19 回、血中 CEA 及び SCC 抗原メッセンジャー RNA の測定を計 40 回行った。

8 例の対象症例においては、Cell Search 分析法による末梢血中循環癌細胞の測定は、すべて陰性で検出されなかった。また血中 CEA 抗原メッセンジャー RNA も検出されなかったが、血中 SCC 抗原メッセンジャー RNA の検出は全例で検出可能であった。血中 SCC 抗原メッセンジャー RNA と術前化学療法の治療効果の結果を表 3. と図 1. に示す。図 1. では術前化学療法有効を青線、無効を赤線とした。血中 SCC 抗原メッセンジャー RNA 発現と術前化学療法の治療効果の間には相関は認められなかった。発現と術前化学療法の治療効果の間には相関は認められなかった。

表 3. 血中 SCC 抗原メッセンジャー RNA と術前化学療法の治療効果

症例	治療 前	治療 中	治療 後	治療 効果	予後
1-1	1.03		2.31	PR	生存
1-2	2.11	1.59	3.56	PD	
2-1	0.97	0.52	0.71	PR	生存
2-2	0.34	0.70	1.85	PR	
3	0.97	0.52	0.71	NC	生存
4-1	0.98	1.15	1.28	PR	生存
4-2	0.79	0.45	0.79	NC	
5-1	1.02	1.36	1.77	PR	生存
5-2		0.59	0.65	PR	
6-1	1.00	0.53	0.62	PR	原病
6-2	0.62	0.74	0.75	NC	死
7-1	1.01	1.31	2.91	PR	生存
7-2	1.29	0.81	1.38	PD	
8	0.99	1.08	2.70	NC	生存

図1. 術前化学療法と血中SCC抗原メッセンジャーRNAの変化



(3) 考察

8 例の登録患者で、Cell Search 分析法による末梢血中循環癌細胞の測定を計 19 回、

血中 C E A 及び S C C 抗原メッセンジャー R N A の測定を計 40 回行った。

食道扁平上皮癌における Cell Search 分析法の陽性率は 14~22% と報告されているが、今回検討した 8 例中 4 例はステージ III 以上で、1 例に術後早期に再発原病死を認めたが、末梢血中循環癌細胞は Cell Search 分析法では全例で検出されず、その原因を SRL とともに検討したが、その原因を同定することはできなかった。

一方血中 SCC 抗原メッセンジャー R N A 発現は全例で認め、術前化学療法の前後で変動を認めたが、治療効果予測を行うには至らなかった。

(4) 結論

食道癌の術前化学療法の前・後で血中 S C C 抗原のメッセンジャー R N A 量の測定を行い、その変化を確認できたが、食道癌術前化学療法の治療効果予測には至らなかった。

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)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下地 英明 (SHIMOJI HIDEAKI)
琉球大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：30305205

(2) 研究分担者

西巻 正 (NISHIMAKI TADASHI)
琉球大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：70242427

(3) 連携研究者 なし