

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 14 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24591837

研究課題名(和文)非小細胞肺癌に対する定位放射線治療後の放射線肺臓炎発症に関与する遺伝子多型の研究

研究課題名(英文) A study for single nucleotide polymorphism as a risk factor correlating to radiation pneumonitis after stereotactic body radiotherapy for non-small cell lung cancer.

研究代表者

大西 洋 (ONISHI, Hiroshi)

山梨大学・総合研究部・教授

研究者番号：30213804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：早期の非小細胞肺癌に対する定位放射線治療は、高い有効性と安全性から期待の大きい治療法である。重症の放射線肺臓炎のリスク因子の一つとして肺線維症が挙げられているが、詳細は明らかにされていない。そこで、放射線肺臓炎との関連が報告されているTGFβ1遺伝子上または周辺の多型および、炎症関連遺伝子多型が定位放射線治療後の肺臓炎発症リスクと関連するか検証した。その結果、肺炎症状(CTCEA grade2以上)についてはステロイド使用歴、平均肺線量、遺伝子多型：rs1801270, rs1800470が、CT上の肺炎所見(照射体積外に発生)についてはステロイドの使用歴と遺伝子多型rs1800470が挙げられた。

研究成果の概要(英文)：Stereotactic body radiotherapy (SBRT) has been expected to be highly effective and safe treatment for early stage non-small cell lung cancer, however serious radiation pneumonitis is occasionally reported. One of the risk factors may include pulmonary fibrosis, but the details have not been clarified. Therefore, in this study, we examined a single nucleotide polymorphism (SNPs) in TGFβ1 gene, para-TGFβ1, or inflammation-related gene observed in the white and the black group in that a correlation with an onset risk of radiation pneumonitis after SBRT. As a result, it was revealed that a history of steroid administration, mean dose of normal lung), and SNIPs of rs1801270 or rs1800470 were correlated to outbreak of CTCAE grade 2 or more radiation pneumonitis, and that history of steroid administration and SNIP of rs1800470 were correlated to outbreak of infiltrative shadow on extra-irradiated volume in CT images.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：定位放射線治療 非小細胞肺癌 放射線肺臓炎 遺伝子多型 リスク因子 遺伝子解析 早期肺癌

1. 研究開始当初の背景
ヒトゲノムの全塩基配列が 2001 年に明らかとなり、さらに個人のゲノム配列の違いと体質の違いの関連性が解析可能になったことから、様々な疾病の罹患リスク、薬剤の応答性に関する遺伝子多型が報告されている。放射線治療によって生じる正常組織障害にも遺伝因子の関わりが示唆されており、これまでに皮膚障害、泌尿器障害、腸管障害等の発症に関連した多型が報告されている。肺がんの治療における放射性肺炎についてはTGFB1やCD44などの炎症系遺伝子の関与は報告されていたが、遺伝子解析に適切な症例の集積が困難であることもあり、個人の遺伝的背景の違いによる発症リスクの違いに関する報告はなかった。2009年、MD AndersonのX. Yuanらは非小細胞肺癌に対する(化学)放射線治療対象患者(白人・黒人が94%)の肺臓炎発症リスクとTHFB1遺伝子上の多型マーカーとの関連解析を行い、T869Cが肺臓炎発症低リスク群と関連することを報告した。また最近の遺伝子多型の研究では特定の多型との関連がなくともその遺伝子の関与する生物学的パスウェイ上の遺伝子の多型との関連が指摘されている。
一方、体幹部に対する定位放射線治療は新しい高精度治療技術として1990年代後半から積極的に行われるようになった。早期肺癌に対する定位放射線治療は、近年その高い有効性と安全性が多く報告されて期待を集めているが、少ないながら致死性の放射線肺炎の発生が報告されている。肺癌に対する定位放射線治療後の重症放射線肺炎のリスク因子の一つとして肺線維症が挙げられているが、詳細は明らかにされていない。
2. 研究の目的
放射線肺炎との関連が文献で報告されている、白人・黒人集団で観察されたTGFB1遺伝子上の多型およびTGFB1遺伝子周辺多型または炎症関連遺伝子多型が、定位放射線治療後の肺臓炎発症リスクと関連するかを、他の患者側因子や治療側因子と併せて探索的に検証することを目的とした。
3. 研究の方法
3 - (1) 研究デザイン
非小細胞肺癌に対する体幹部定位放射線治療を行った患者集団をコホートとみなし、コホート内ケース-

コントロール研究を行うこととした。患者集団はレトロスペクティブおよびプロスペクティブのいずれでも登録可能とした。

症例登録は研究分担者および研究協力者の所属する多施設から募った。

3 - (2) ケース群とコントロール群の定義

ケース群は、非小細胞肺癌に対する定位放射線治療後の患者の内、Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE: 有害事象共通用語規準)でgrade 2以上の肺炎を定位放射線治療開始後6カ月以内に発生した症例群とした。

CTCAE ver.3.0

Grade 1: 症状がなく、画像所見のみ。

Grade 2: 症状があるが日常生活に支障がない。

Grade 3: 症状があり、日常生活に支障がある。または酸素吸入を要する。

Grade 4: 生命を脅かす。または人工呼吸を要する。

Grade 5: 死亡。

ただし、上記のように肺炎の重症度は呼吸困難などの症状により決定されるが、症状は元々患者の持っている呼吸機能に大きく依存するので、本研究では肺炎自体の重症度と遺伝子解析の結果を相関させるため、grade 2以上の放射線肺炎を更に以下の二つに分けて記録し、分析時に層別化して遺伝子多型との関係を検討した。

ケース グループ-1: grade 2以上であり、かつ明らかな照射線束外(照射線量0Gy領域)に、放射線照射以外の原因が除外された肺炎が発生した症例群

ケース グループ-2: grade 2以上であり、かつ明らかな照射線束外(照射線量0Gy領域)に、放射線照射以外の原因が除外された肺炎が認められない症例群

肺炎発生時期の記録

体幹部定位放射線治療時点を起点とし、grade 2以上の放射線肺臓炎の発症時点もしくは、最終観察時点を特定・記録した。

コントロール群は、定位放射線治療開始後6カ月以上grade 2以上の放射線肺炎を発生しなかった症例の

中から、時点マッチング法で抽出した者をコントロール群とした。すなわち、定位放射線治療開始後6カ月以内に grade 2 以上の放射線肺臓炎を起こした時点ごとに、その時点で grade 2 以上の放射線肺臓炎を発生せずに観察中の対象集団(リスク集団)から復元抽出にてコントロールを選択する(時点マッチング)。ケース症例ごとに必要なコントロールの選択数は、同意が得られない可能性を考慮してはじめ20名とし、そのうち抽出順にインフォームド・コンセントを試み、異なる対象者4名から同意が得られて採血が完了した時点でコントロール選択を終了することとした。

3 - (3) 照射方法

定位放射線治療の定義は、日本放射線腫瘍学会編の「体幹部定位放射線治療ガイドライン」に示されたものとした。

5~10門の固定多門照射や多軌道回転運動照射などにより、直線加速器(マイクロトロンを含む)を用いて多方向から3次元的に、小さな照射領域に対して従来の放射線治療よりも大線量を短期間に照射すること。

照射回ごとの照射中心位置のズレ(固定精度)を5mm以内に収める(注2)。照射中心の固定精度(毎回照射時の照射中心の、治療計画時に設定した照射中心に対する、臓器の体内移動を除いた移動距離のことである)が5mm以内であることを毎回の照射時に確認する(毎回の照射時の照射中心位置が分かる記録を残しておく)こと。

固定フレームやシェルを用いて患者の動きを固定する、または生理的呼吸運動や臓器の体内移動に呼吸停止・同期または追跡して照射を行い、治療中のズレに対し

ても精度管理を行うこと。

照射線量は、Biologically effective dose (BED, / = 10Gy)で任意の投与点に100Gy以上照射されたものとする。なお、線量計算アルゴリズムについては任意とする。不均質補正は必須とする。

3 - (4) 血液試料解析

採取した血液(以下、試料)を速やかに冷蔵庫(4℃)保存し、匿名化処理を施した上で冷蔵型保冷便にて4日以内に試料解析実施施設(放射線医学総合研究所重粒子医科学センター)に送付して解析した。送付された試料から自動DNA抽出装置または市販DNA抽出キットを用いてゲノムDNAの抽出を行う。表1の様な放射線肺臓炎関連遺伝子候補について、ヌクレオチドの質量差を検出するMass Arrayシステムを中心にタイピングを行う(図1)。

タイピング結果はデータ解析センター(北海道大学大学院医学研究科 北海道臨床開発機構)に送付し、データ解析センターにおいて匿名化番号により診療情報と連結した。

図1 SNPタイピング法

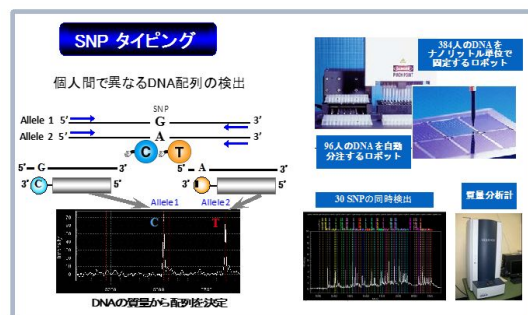


表1 分析対象の放射線肺炎関連遺伝子

| Gene name | Protein name | rsID |
|--------------|---|----------------------|
| | CD44 antigen (Phagocytic glycoprotein 1) | |
| CD44 | | rs9666607 |
| | Cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (p21) | |
| CDKN1A | | rs1801270 |
| | Cyclooxygenase-2 (Prostaglandin G/H synthase 2) | |
| COX2 (PTGS2) | | rs3218625 |
| EGF | Pro-epidermal growth factor | rs11568849 |
| EGF | Pro-epidermal growth factor | rs11568943 |
| EGF | Pro-epidermal growth factor | rs2237051 |
| EGFR | Epidermal growth factor receptor | rs11543848 |
| GSTO2 | Glutathione S-transferase omega-2 | rs156697 |
| ID3 | DNA-binding protein inhibitor ID-3 | rs11574 |
| IL1A | Interleukin-1 alpha | rs17561 |
| PARP1 | Poly (ADP-ribose) polymerase 1 | rs3219145 |
| PARP1 | Poly (ADP-ribose) polymerase 1 | rs1136410 |
| | Signal transducer and activator of transcription 3B | |
| STAT3B | | rs2277619 |
| TGFB1 | Transforming growth factor beta-1 | rs1800469 |
| TGFB1 | Transforming growth factor beta-1 | rs1800471 |
| TGFB1 | Transforming growth factor beta-1 | rs1982073(rs1800470) |
| TGFB1 | Transforming growth factor beta-1 | rs6957 |
| TGFB2 | Transforming growth factor beta-2 | rs10495098 |
| TLR1 | Toll-like receptor 1 | rs5743551 |
| | Tumor necrosis factor ligand superfamily member 13 | |
| TNFSF13 | | rs11552708 |
| TP53 | Cellular tumor antigen p53 | rs1042522 |

3 - (5) 因子解析

ケース グループ-1, ケース グループ-2, コントロール群の間で、下記に示すような診療情報より抽出した患者側因子・照射情報の各項目、および遺伝子多型頻度との関連性を統計的に評価した。解析方法は、マッチングを考慮するため、遺伝子多型および下記の予後因子を説明変数とした条件付きロジスティック回帰を行うこととした。

* 説明変数 年齢、性、fibrosisの有無と程度、smoking index、照射前KL-6、Sp-D、CRP、WBC、SpO2、FEV1.0、FVC、DLC0、ステロイド使用歴、膠原病の有無、職業歴、V20(Lung-GTV)、V10(Lung-GTV)、V5(Lung-GTV)、平均肺 (Lung-PTV) 線量などである。

なお、これらの説明変数についてはレトロスペクティブな症例については

可及的に収集し、プロスペクティブな症例については必須とした。

統計解析は、マッチングを考慮したロジスティック回帰を各遺伝子に関して行う。有意水準は5%とし、各遺伝子を検定することに伴う検定の多重性は、Hommelの方法で補正した。また、中間解析を実施することとし、中間解析時点の情報分数に基づいて計算されたO'Brien-Fleming型の有意水準を用いて検定を行うこととした。

4 . 研究成果

2016年4月までに256症例の登録があり、このうち診療情報と遺伝子解析結果が明らかになった228症例を分析対象とした。

4 - (1) 放射線肺炎 grade の内訳

CTCAE 3.0 で

Grade0 11例

Grade1 178例

Grade2 33例

Grade3 6例

したがって、ケース群は39例(17.1%)、コントロール群は189例となった。

CT所見について

上記ケース群のうち、照射体積外に放射線肺炎発生症例(ケース群-1)は17例、照射体積内のみの放射線肺炎発生症例(ケース群-2)は19例、ケース群とコントロール群を合わせた全症例で線束外に放射線肺炎発生症例が23症例であった。

4 - (2) ケース vs コントロール群の因子解析における単変量解析の結果で統計的に有意(p<0.05)な因子

患者側一般因子：ステロイドの使用歴

治療側因子：放射線治療計画におけるPTVの体積、V20(Lung-GTV)、V10(Lung-GTV)、V5(Lung-GTV)、平均肺(Lung-GTV) 遺伝子多型：rs1801270、

4 - (3) ケース vs コントロール群の因子解析における多変量解析の結果で統計的に有意(p<0.05)な因子

患者側一般因子：ステロイドの使用歴(p=0.0362)

治療側因子：平均肺(Lung-GTV)

($p < 0.0001$)

遺伝子多型：rs1801270($p = 0.0119$),
rs1800470($p = 0.0169$)

4 - (4) ケース群-1 vs それ以外の
因子解析における多変量解析の結果で統
計的に有意 ($p < 0.05$) な因子

患者側一般因子：ステロイドの使用
歴($p < 0.0001$)

治療側因子：なし

遺伝子多型：rs2237051($p = 0.0239$),
rs11543848($p = 0.0004$)

4 - (5) ケース群-2 vs それ以外の
因子解析における多変量解析の結果で統
計的に有意 ($p < 0.05$) な因子

患者側一般因子：なし

治療側因子：平均肺 (Lung-GTV)

($p < 0.0001$)

遺伝子多型：なし

4 - (6) 全症例で照射体積外に放射
線肺炎発症症例 vs それ以外の因子解析
における多変量解析の結果で統計的に
有意 ($p < 0.05$) な因子

患者側一般因子：ステロイドの使用
歴($p = 0.0008$)

治療側因子：なし

遺伝子多型：rs1800470($p = 0.0047$)

4 - (7) 結論と考察

I 期非小細胞肺癌に対する定位放射線
治療後の放射線肺炎発生のリスク因子と
して、臨床的症状 (CTCEA grade2 以上)
についてはステロイドの使用歴、平均肺
線量 (Lung-GTV)、遺伝子多型：
rs1801270, rs1800470 が、CT 所見上 (照
射体積外に発生) についてはステロイド
の使用歴と遺伝子多型 rs1800470 が挙げ
られた。これらの患者背景をもった症例
については重症放射線肺炎の発生に十分
な注意を要するとともに、定位放射線治
療内容について調整を必要とする症例が
あると考える。今後は、症例をさらに追
加するとともに、全遺伝子解析を加えて
さらに明確な I 期非小細胞肺癌に対する
定位放射線治療後の放射線肺炎発生のリ
スク因子を検討していきたい。

5 . 主な発表論文等

厚労科研・白土班会議 (平成
24,25,26,27 年の各年度) においてその
都度進捗状況を報告してきたが、いまだ
初回の間解解析を行った段階であり、学
会発表や論文文化はこれからである。

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

大西 洋 (ONISHI, Hiroshi)

山梨大学・総合研究部・教授

研究者番号：30213804

(2) 研究分担者

塩山 善之 (SHIOYAMA, Yoshiyuki)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：10323304

(平成24年度まで研究分担者)

吉武 忠正 (YOSHITAKE, Tadamasa)

九州大学・医学研究院・講師

研究者番号：40452750

(平成25年度より研究分担者)

伊藤 陽一 (ITO, Yoichi)

北海道大学・医学研究科・准教授

研究者番号：10334236

白土 博樹 (SHIRATO, Hiroki)

北海道大学・医学研究科・教授

研究者番号：20187537

今井 高志 (IMAI, Takashi)

国立研究開発法人放射線医学総合研
究所・重粒子医科学センター・プロ
グラムリーダー

研究者番号：50183009

鬼丸 力也 (ONIMARU, Rikiya)

北海道大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80374461

小久保 雅樹 (KOKUBO, Masaki)

公益財団法人先端医療振興財団・放
射線治療科・部長

研究者番号：90283605

(3) 研究協力者

栗山 健吾 (KURIYAMA, Kengo)

小宮山 貴史 (KOMIYAMA, Takafumi)

富永 理人 (TOMINAGA, Rihito)

大栗 実彦 (OGURI, Mitsuhiko)

野中 穂高 (NONAKA, Hotaka)

青木 真一 (AOKI, Shinichi)

松本 康男 (MATSUMOTO, Yasuo)

松下 晴雄 (MATSUSHITA, Haruo)

高山 賢二 (TAKAYAMA, Kenji)

井上 哲也 (INOUE, Tetsuya)

加藤 徳雄 (KATO, Norio)

山下 英臣 (YAMASHITA, Hideomi)

唐澤 克之 (KARASAWA, Katsuyuki)

江原 威 (EBARA, Takeshi)
植木 奈美 (UEKI, Nami)
松尾 幸憲 (MATSUO, Yukinori)