

【5】

氏 名	井 原 啓 佑
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第684号
学位授与の日付	平成29年3月7日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (腫瘍外科学)
学位論文題目	DNA double-strand breaks repair protein expression predicts response and prognosis of colorectal cancer patients undergoing oxaliplatin-based chemotherapy (DNA修復タンパクの発現は大腸癌患者のオキサリプラチンをベースとした化学療法における治療効果と予後を予測する)
論文審査委員	(主査) 教授 窪 田 敬 一 (副査) 教授 釜 井 隆 男 教授 小 橋 元

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

大腸癌に対する制癌剤治療は、新規薬剤の開発や臨床応用に伴い、ここ十数年で格段の進歩を遂げている。現在、切除不能進行再発大腸癌の全身化学療法に用いられるのは5-フルオロウラシル、オキサリプラチン、イリノテカン、トリフルリジン・チピラシル塩酸塩の殺細胞性制癌剤と抗Vascular endothelial growth factor抗体、抗Epidermal growth factor receptor抗体、マルチキナーゼ阻害剤などの分子標的薬剤を加えた主に7系統の作用機序を持つ薬剤である。7系統の薬剤を組み合わせることで順次使用することにより、切除不能・進行再発大腸癌患者の生存期間は30ヶ月を超えるようになった。しかし、効果は症例間で差異があるため、治療効果を予測するバイオマーカーの探索が必要であり、現在まで様々な研究が行われてきた。分子標的薬剤においてRas関連遺伝子の大腸癌における体細胞変異の有無は抗EGFR抗体による治療効果を予測する重要なバイオマーカーであることが知られている。

クロスリンカー型制癌剤であるオキサリプラチンは、DNA鎖に架橋を形成する。架橋されたDNAは、その修復や複製の過程でDNA二本鎖切断（DNA double-strand break：DSB）を生じる。DSBに対する修復は非相同末端結合と相同組み換え修復により行われる。Fanconi-breast cancer susceptibility gene経路に属する修復タンパク群は相同組み換え修復によりDSB修復を行う。癌細胞におけるDSB修復能の違いはDSB誘発下で、その生存に影響を与える。そのため治療に対する感受性

が異なり、治療効果を予測できる可能性がある。

【目 的】

今回我々はDNA二本鎖切断からの修復が不全状態にある大腸癌にはクロスリンカー型制癌剤が劇的に効果を上げる可能性があるとして仮説を立てた。相同組み換え修復において重要な役割を持つ Meiotic Recombination 11 (MRE11) とRAD51について、それぞれ大腸癌患者における免疫染色による発現を確認し、治療効果との関連について検討を行った。

【対象と方法】

2007年から2013年に原発巣の切除がなされた進行再発大腸癌患者のうち、切除不能因子を持つ92例を対象とした。対象となる症例は全例書面による臨床研究への同意を得られている。DSB修復タンパクであるMRE11とRAD51について、治療前の検体を用いて免疫組織化学染色を行い切除不能進行・再発大腸癌における発現を検討し、臨床病理学的因子や治療効果との関連を検討した。

標的病変はResponse evaluation criteria in solid tumors (RECIST) version1.1を用いて選定された。治療効果の判定は、一次治療の最良治療効果 (best overall response) を用いた。標的病変の腫瘍径の総和の変化比を用いて治療効果を評価した。非標的病変は考慮しないこととしている。エンドポイントとしてはprogression free-survival (PFS) を用いた。各々のDNA修復タンパクの発現と臨床病理学的因子や治療効果との相関の検定において、パラメトリックな2群間の検定にはStudent t検定を用い、ノンパラメトリックな2群間の検定にはMann-Whitney U検定を用い、評価を行った。 Kaplan-Meier法により生存曲線を作成し、log-rank検定で差を評価した。Coxの比例ハザードモデルによる多変量解析を行い、予後を規定する因子を明らかにした。

【結 果】

観察集団の年齢の中央値は64.5歳。男女比は男49例、女29例であった。PFSの中央値は10.9ヶ月であった。MRE11、RAD51ともに陰性群において、陽性群と比較し、より腫瘍の縮小効果が得られた ($p=0.029$, $p<0.001$)。PFSは、MRE11陽性群において陰性群と比較し、短縮する傾向を示したが、統計学的な有意差はなかった (11.8ヶ月対11.3ヶ月、 $p=0.5$)。それに対してRAD51陽性群は陰性群と比較して、有意にPFSが短縮した (13.5ヶ月対9.7ヶ月、 $p=0.035$)。また、MRE11とRAD51は連続的な役割を示し、どちらかが欠けた場合はDSB修復の役割を果たせないと考え、MRE11、RAD51ともに陰性、MRE11、RAD51のいずれかが陰性の場合、“defective pattern”、ともに陽性の場合を“abundant pattern”とする2群に分け、治療効果との関連を検討した。Defective patternとabundant patternを比較したところ、臨床病理学的因子に有意差を持つ項目は認めなかった。defective patternではabundant patternに比べ、標的病変の縮小効果が得られた ($p<0.001$)。Cox比例ハザードモデルによる多変量解析ではDSB修復タンパク発現パターンは単独で予後を規定する因子となり得た (hazard ratio 3.62, $p=0.036$)。

【考 察】

DSBに対する修復のなかで代表的な相同組み換え修復において、MRE11とRAD51はそれぞれ重要な役割を果たすことが知られている。我々はこれらDSB修復タンパクの大腸癌における発現と、治療

効果や予後との検討を行った。結果としてMRE11、RAD51の陰性群はともに化学療法における標的病変の縮小効果が得られることを示した。RAD51単独では陰性群で生存期間が延長する可能性を示した。RAD51は他の癌腫においても過発現が治療抵抗性の獲得や予後を増悪させる可能性を示すことが報告されている。今回の検討でも発現が保たれているものは治療抵抗性であることが示された。

MRE11陰性群は単独では予後を規定する因子とはなり得なかった。この理由として、MRE11のみに影響をおよぼす因子が介入したことが考えられる。大腸癌においてMRE11の変異がマイクロサテライト不安定性 (MSI) を伴う患者の83.7%に存在することが報告されている。MSIは大腸癌の15%に存在する。MSIを伴う症例では5-フルオロウラシルの効果が悪い。その影響で本来オキサリプラチン感受性であるMRE11陰性群の一部が5-フルオロウラシル抵抗性により相殺されてしまった可能性があると考えた。MSIは右側結腸に優位に存在する。本研究における対象の右側結腸に原発を有した症例を除いて再度検討を行った。結果としてMRE11陰性群が陽性群に対して優位に生存期間が延長することがわかった。そのため、MSIによる5-フルオロウラシル抵抗性によりMRE11が有用なマーカーとなる結果を示せなかった原因と考えられた。

【結 論】

DSB修復タンパクの高発現は切除不能・進行再発大腸癌患者において化学療法の感受性が低下し、予後を悪化させる可能性を示唆した。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

クロスリンカー型制癌剤であるオキサリプラチンの作用機序は、DNA鎖に架橋を形成し、DNA複製を阻害することで抗腫瘍効果を発揮する。架橋されたDNAは、その修復や複製の過程でDNA二本鎖切断 (DNA double-strand break : DSB) を生じる。DSBに対する修復は非同源末端結合と相同組み換え修復により行われる。癌細胞におけるDSB修復能の違いはDSB誘発下で、その生存に影響を与える。そのためオキサリプラチンによる治療に対する感受性が異なり、治療効果を予測できる可能性がある。申請論文ではDSBの修復が不全状態にある大腸癌にはクロスリンカー型制癌剤が劇的に効果を上げる可能性があると考え、相同組み換え修復において重要な役割を持つMeiotic Recombination 11 (MRE11) とRAD51について、それぞれ大腸癌組織における免疫染色による発現を確認し、治療効果との関連について検討を行っている。2007年から2013年に原発巣の切除がなされた進行再発大腸癌患者のうち、切除不能因子を持つ78例を対象としている。結果 1) MRE11、RAD51ともに陰性群において、陽性群と比較し、より腫瘍の縮小効果が得られた。2) 無増悪生存期間は、RAD51陽性群は陰性群と比較して、有意に短縮していた。3) MRE11とRAD51は連続的な役割を示すため、どちらかが欠けた場合はDSB修復の役割を果たせないと考え、MRE11、RAD51ともに陰性、またはMRE11、RAD51のいずれかが陰性の場合を“defective pattern”とし、ともに陽性の場合を“abundant pattern”とする2群に分け、治療効果との関連を検討した。Defective patternではabundant patternに比べ、標的病変の縮小効果が得られている。4) Cox比例ハザードモデルによる多変量解析では

DSB修復タンパク発現パターンは左側大腸癌において単独で予後を規定する因子となっていた。以上の結果から申請論文では、DSB修復タンパクの高発現は切除不能・進行再発大腸癌患者において化学療法の感受性を低下させ、予後が不良である可能性がある」と結論付けている。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、手術症例の切除検体を用いて、標準的な実験方法である免疫組織化学染色法によりMRE11、RAD51の発現を検討することで大腸癌におけるDSB修復能を評価している。染色評価は既報されている論文に則り正しく行われており、かつ適切な対象群の設定と客観的な統計解析を行っており、本研究方法は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

大腸癌化学療法において広く用いられているオキサリプラチンの信頼すべきバイオマーカーは現状では存在していない。申請論文では、DSB修復能がオキサリプラチンを用いた化学療法に対する感受性や予後に影響することを述べている。この結果は、今後の大腸癌化学療法におけるオーダーメイド治療の発展に役立つ可能性があり、本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、多数の症例を、適切な対象群の設定の下、確立された実験手法と統計解析を用いて、大腸癌におけるDSB修復能の評価と化学療法治療効果や予後を検討している。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、分子生物学や関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、DSB修復能がオキサリプラチンを用いた化学療法に対する感受性や予後を規定することを述べている。この結果は、今後の大腸癌化学療法におけるオーダーメイド治療の発展に役立つ可能性がある。化学療法の効果予測が可能となることで、切除不能大腸癌患者の予後の延長に大いに役立つ可能性のある大変意義深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は、病理学、分子生物学の理論を学び実践した上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌への掲載が承認されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

(主論文公表誌)

Oncology Reports

35 : 1349-1355, 2016