

主論文の要旨

**Prediction of Early Recurrence After Curative
Resection of Colorectal Liver Metastasis and
Subsequent S-1 Chemotherapy**

〔 大腸癌肝転移切除例に対する S-1 化学療法後の再発予測 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

山内 康平

【緒言】

進行大腸癌の約40-50%に遠隔転移を認め、転移性大腸癌患者の生存期間は4-6ヶ月である。S-1はテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウムが配合された5-フルオロウラシル系の経口抗がん剤で、大腸癌の術後補助化学療法に使用されている。転移性大腸癌患者に対するS-1化学療法の2つの第2相試験での奏効率は35%以上で、病勢コントロール率は80%以上であった。我々の教室でも、大腸癌の肝転移巣切除後のS-1化学療法の検討において、許容範囲内の有害事象と高い完遂率を得ている。日本において、S-1化学療法は肝転移切除後の補助化学療法の一つであるが、1年以内の早期再発の症例も存在している。今回我々は肝転移切除症例におけるS-1化学療法後の早期再発例の予測のためのバイオマーカーの探索を行なった。

【対象と方法】

2008年10月から2010年8月までの間で肝転移をきたした原発性大腸癌患者のうち、肝切除術を施行(同時性24例、異時性29例)した53症例を対象とした。肝転移切除後56日以内にS-1化学療法を開始し、4週間連続内服後2週間の休薬を行った。転移巣は肝切除術後4ヵ月毎の胸腹部CT検査および臨床症状や血液学的検査で評価した。組織学的に大腸癌と診断された53症例の切除標本を用いてPCR解析を行った。本研究は名古屋大学医学部倫理委員会で承認され、全ての症例においてインフォームドコンセントが得られている。大腸癌と肝転移病変に関する臨床情報については、表1に記載した。血清CEA値は、大腸癌の術前検査時のものを用いた。

RNA抽出とcDNA作成

癌組織は、ホルマリン固定された大腸癌のパラフィン包埋標本からレーザーキャプチャマイクロダイセクション法で選択的に採取し、その組織の400 μ lをRNA溶解バッファと混和した。RNA抽出とcDNA作成は、Loadらが報告した方法に基づいて行なった。

PCRアレイ解析

作成したcDNAを用いて、薬剤耐性および代謝に関する84遺伝子についてPCRアレイを用いて網羅的解析を行なった。84遺伝子のうち、47遺伝子は増幅が不十分で検出できなかったため、残りの37遺伝子について解析を行った。内部コントロール遺伝子としてphosphoribosyltransferase1 (HPRT1)とribosomal protein L13a (RPL13A)を用いた。PCRアレイは、7300RT-PCRシステムを用いて、1.5倍以上または1.5倍以下を有意差ありとした。

【結果】

大腸癌と肝転移に関する臨床情報は、表. 1に記載した。53名の患者のうち、35症例は1年以内に再発を認めなかった非早期再発(NREC群, no recurrence group)、18症例は1年以内に再発を認めた早期再発(EREC群, Early recurrence group)であった。これらの2群間において、薬剤耐性および代謝に関する遺伝子発現に有意差は認められなかった。(図. 1)

次に、同時性肝転移(24症例)と異時性肝転移(29症例)の遺伝子発現について解析を行った。同時性肝転移において、NFKBIEとTOP1の発現が亢進していた。同時性肝転移24症例のうち、11症例(46%)において早期再発を認め、異時性肝転移29症例のうち、7例(24%)において早期再発を認めた。2群間での早期再発について、統計学的有意差は認めなかった。

同時性肝転移の24症例中、CEA値が5ng/ml以下であった8例のうち4例に早期再発を認め、CEA値が5ng/ml以上であった16例のうち7例に早期再発を認めた。しかし2群間に統計学的有意差は認めなかった。(図. 2a) 一方、異時性肝転移29症例では、CEA値が5ng/ml以下であった14例のうち1例に早期再発を認め、CEA値が5ng/ml以上であった15例のうち6例に早期再発(EREC群)を認め、統計学的有意差を認めた。(図. 2b) 異時性肝転移でCEA値が5ng/ml以上であった15症例を非早期再発(NREC群) 9例と早期再発(EREC群)6例にわけ、2群間での遺伝子発現を比較検討した。その結果、早期再発(EREC群)において、CYP2C19とABCB1の有意な遺伝子発現の低下を認めた。

【考察】

近年、進行大腸癌に対する外科療法や化学療法の進歩により治療成績は改善されつつある。大腸癌肝転移に対しても同様であり、我々の教室においても肝転移切除後にS-1を用いた補助化学療法に関する第II相試験で安全性と高い完遂率を明らかにしている。しかし、約35%の患者ではS-1化学療法後1年以内に早期再発のために、S-1化学療法から他のレジメンへ変更せざるをえなかった。S-1化学療法後の早期再発を予測するバイオマーカーはいまだ存在していない。

1年以内の非早期再発群(NREC群、35例)と早期再発群(EREC群、18例)の遺伝子発現において統計学的な有意差は認められなかった。同時性肝転移と異時性肝転移の症例ではNFKBIIとTOP1の遺伝子発現において統計学的な有意差は認めたが、同時性肝転移と異時性肝転移と早期再発には相関を認めなかった。

しかし異時性肝転移での血清CEA値5ng/ml以上の症例では早期再発率が高く、CYP2C19やABCB1の遺伝子発現が低下していた。これらの結果は、S-1化学療法がCEA値(5ng/ml以上)の高く、CYP2C19やABCB1の発現が低下している異時性肝転移の切除後には有効でないことを示している。

血清CEA値は、消化器がんでの化学療法の臨床的効果を評価するための一般的なバイオマーカーである。しかし、Kochらは一時的なCEAの上昇と結腸癌の再発に関連がないことを、TakahashiらはCEAが大腸癌の肝転移切除後の化学療法後の生存期間に影響がないことを報告している。一方、Chuangらは異時性肝転移再発症例において、術前CEA値は独立予後因子であるとも報告している。今回の結果から、同時性肝転移切除後の早期再発と血清CEA値との間には関連性がなかったが、異時性肝転移症例においてCEA値5ng/ml以上の方が、5ng/ml以下に比べて有意に早期再発率が高かった。CEAは早期再発を予測するのにおそらく有効であると考えられる。

次に、異時性肝転移でCEA値5ng/ml以上の症例では早期再発とCYP2C19とABCB1の発現

が低下していることを明らかにした。CYP2C19はCYP2C18、CYP2C9、CYP2C8からなるCYP2Cサブファミリーに属している。CYPs(Cytochrome P450)は、発がん物質または前発がん物質の代謝に関連する、薬物代謝酵素である。Sachseらは大腸癌においてCYP2C19活性の減弱が癌のリスクを減少させたと報告している。一方、Shiらは肺癌患者群ではコントロール群と比較してCYP2C19代謝の低下の割合が有意に多かったと報告しており、RoddamらはCYP2C19代謝の低下が成人急性白血病は進行リスクを増加させたと報告している。大腸癌再発とCYP2C19に関する研究はほとんどなく、CYP2C19の基質も明らかになっていない。この点に関しては今後の研究が必要である。ABCB1(ATB-Binding Cassette, Sub-Family B(MDR/TAP) Member1)は、ATP結合カセットファミリーに属しており、癌細胞の薬剤耐性に関連すると考えられている。ABCB1と大腸癌の早期再発との関連性について、WeinsteinらはABCB1が抗がん剤治療後の結腸癌再発患者において高発現していると報告している。一方で、Lazariusらは原発巣と再発巣の間にABCB1の発現に差はないと報告している。ABCB1の基質は電荷が中性または陽性の疎水性薬剤である。5-FUはABCB1が基質ではなく、5-FUの抵抗性に関連するとは考えにくい。しかしながら、詳細なメカニズムは不明だが、ABCB1の発現の低下は大腸癌の異時性肝転移でCEA値5ng/ml以上のS-1化学療法後の早期再発への関与が考えられた。

【結語】

本研究では十分な結論を導くには患者数が少なく、予後不良のグループでの遺伝子発現の低下の理由についても明らかにできていない。しかし今回の結果から得られた知見は大腸癌の臨床に役立つ可能性がある。今後、大腸癌での個々の遺伝子の機能を明らかし、S-1化学療法での治療効果や早期再発のためのバイオマーカーとしての有用性に関してさらなる研究が必要である。