

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



平成 29 年 5 月 18 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461033

研究課題名(和文)EUS-FNA検体を用いた、新たな膵癌集学的治療戦略

研究課題名(英文)Novel strategy for treatment of pancreatic cancer by using EUS-FNAB samples

研究代表者

伊佐地 秀司(Isaji, Shuji)

三重大学・医学系研究科・教授

研究者番号：70176121

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：難治癌の一つである進行膵癌に対して、超音波内視鏡下針生検にて得られた診断時のサンプルを用いて、個別化治療を推進するための新しいバイオマーカーを見だし、その有用性を研究した。まず、Human equilibrative nucleoside transporter (hENT1)は抗癌剤GEMの主要な腫瘍細胞内輸送蛋白であるが、このhENT1発現を針生検のサンプルを用いて、抗癌剤感受性を調べ、治療と予後予測に役立てた。また、別の抗癌剤TS1についても、治療前にdihydropyrimidine dehydrogenase (DPD)発現を調べることにより、同様な役割を果たせることを証明した。

研究成果の概要(英文)：By using Endoscopic Ultrasonography-Guided Fine-Needle Aspiration Biopsy (EUS-FNAB) samples, we planned to establish personalized treatment for advanced pancreatic cancer. First we evaluated the relationship between Human equilibrative nucleoside transporter (hENT1) expressions assessed by immunohistochemical staining and clinical outcomes. We could discriminate whether the patients had a sensitivity of chemotherapy (gemcitabine) or not. In addition, we investigated immunohistochemical staining of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD: enzyme involved in the degradation of tegafur), and we revealed that DPD was useful of chemo sensitivity for TS-1.

研究分野：膵癌治療

キーワード：膵癌 EUS-FNAB

1. 研究開始当初の背景

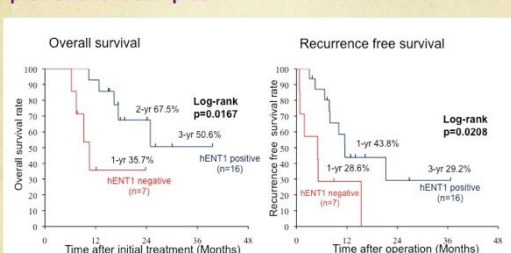
膵癌は消化器癌の中で最も予後不良の癌であり、外科的切除に優る治療はないが、切除例においても長期成績は依然として不良である。2005 年 2 月から、当院では局所進行膵癌に対し gemcitabine(GEM)を用いた化学放射線療法(GEM-CRT)、治癒をめざした切除、術後補助化学療法からなる集学的治療を 130 例以上行っている。

<これまでの我々の成績>

GEM-CRT 治療成績: UICC-T3 切除例 (40 例); 根治切除率は 87.5%, 生存期間中央値: 24.9 ヶ月。UICC-T4 切除例 (18 例); 根治的切除率は 28.0%, 生存期間中央値: 16.3 ヶ月。非切除症例 (15 例); 生存期間中央値: 6.4 ヶ月。切除例は非切除例に比べて有意に予後が改善した。しかし、診断時には手術適応として GEM-CRT を施行しても GEM-CRT 終了後に UICC-T3、T4 症例のそれぞれ 5 例 (8.8%)、7 例 (19.4%) に遠隔転移が発見され非手術適応と判断される症例が見られた。また我々は、GEM-CRT の組織学的効果と予後との検討を行い、組織学的効果良好例 (High responder) では極めて予後が良好であったが、不良例 (Low responder) は High responder に比べて有意に予後が不良であったことを報告した。

これらの結果から、GEM-CRT は腫瘍の進行程度にかかわらず、全ての膵癌症例に有効ではないことが判明した。できれば GEM-CRT 施行前に治療有効な症例と無効な症例を判別することが必要であるが、化学放射線療法感受性を予測できる信頼性の高いマーカーは膵癌では同定されていない。そこで、我々は化学放射線療法施行前に感受性予測可能な新規バイオマーカーを探索するとともに、治療抵抗性を示すがん細胞の分子生物学的特性、癌微小環境を検討し、その治療抵抗性獲得機序の解明を試みた。

Survival analysis according to hENT1 expression in pretreatment samples



hENT1/TS 組織内発現と予後との関係

Human equilibrative nucleoside transporter (hENT1) は GEM の主要な腫瘍細胞内輸送蛋白である。我々は、NCRT 施行後に膵切除術を行った局所進行膵癌患者 55 例を対象に、腫瘍組織中の hENT1 発現レベルと 5-FU の標的酵素である thymidylate synthase (TS) の治療効果、予後との関係を検討し、hENT1/TS は有用な予後規定因子であ

ることを報告した。

また、そのうち治療前の EUS-FNAB で hENT1 組織内発現の検討に十分な組織量を得た 23 例 (UICC-T3: 16 例、T4: 7 例) を対象に GEM-CRT 前後の膵癌組織中の hENT1 の発現変化と GEM-CRT の治療効果との関連を検討したところ、EUS-FNAB 検体を用いた腫瘍内 hENT1 発現は、切除標本とほぼ同じ染色性を示し、hENT1 陽性群は、生存期間、無再発生存期間ともに hENT1 陰性群よりも有意に良好であった。

2. 研究の目的

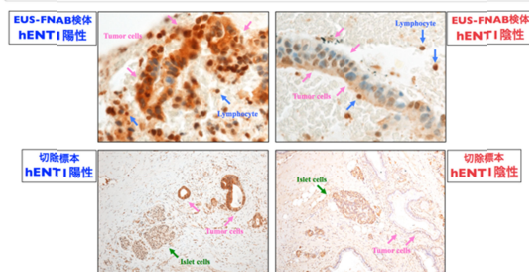
膵癌治療のテーラーメイド化を目指して (膵癌における新たなバイオマーカーを探索する): 膵癌は他の癌腫と比較して、豊富な細胞外基質を伴う過剰な間質増生を病理組織学的特徴とする。近年では、がん幹細胞と周囲の間質線維芽細胞との細胞間相互作用や細胞外基質-細胞間相互作用が膵癌の悪性度を高め、浸潤・転移を促進し、膵癌の治療抵抗性を誘導している機序が報告されており、間質増生の制御が膵癌の新たな治療戦略に成り得ると考えられている。細胞外基質には、SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine, or osteonectin/BM40)、thrombospondin 1/2、tenascin-C/X、osteopontin などが挙げられるが、間質内 SPARC の発現は予後と負の相関を示すことが知られている。2011 年に nab-Paclitaxel/GEM の併用療法は奏効率 48% と良好で有害事象も忍容可能であることが報告され、GEM 単剤投与を上回る効果も期待できるとされた。同時に nab-Paclitaxel/GEM の奏効率と SPARC の発現には相関があるとも報告されており、治療前の EUS-FNAB 検体を用いて SPARC の発現を検討することで、治療効果の予測も可能になると考えている。また、細胞外基質の一つである tenascin-C (テネascin C) の発現は癌における浸潤・転移を促進することから、tenascin-C 産生を阻害することにより、癌細胞の浸潤・転移を特異的に抑制することが推察されている。このことから、NCRT 治療抵抗性に関与する cancer stem cell のマーカーと特性を把握し、さらにはがん幹細胞と間質線維芽細胞の相互作用、テネascin C 産生による NCRT 耐性機構を解明すれば、これらを標的とした治療開発、薬剤耐性回避治療への展開が可能となると考えている。

3. 研究の方法

超音波内視鏡的下での針生検で得られた少量の膵癌組織検体を用いた GEM、S1、nab-Paclitaxel 感受性遺伝子発現レベル定量法の確立: 超音波内視鏡下生検法 (EUS-FNAB) で採取された膵癌組織中の hENT1/TS/SPARC 発現と NCRT の効果、予後との関連を前向きに検証。NCRT 抵抗性膵癌におけるがん細胞の間質マーカーと特性の検

証：治療抵抗性に関連した細胞外マトリック

EUS-FNAB検体における膵癌組織内hENT1発現 (免疫組織学的定性)



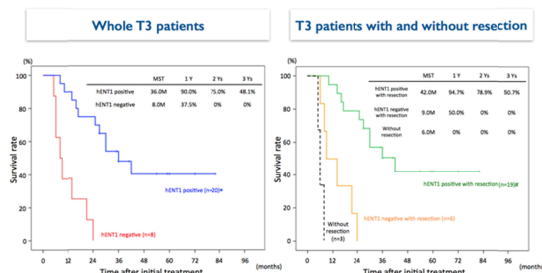
EUS-FNAB検体ではリンパ球をコントロールとしており、切除標本においてはラ氏島をコントロールとした。

ス (tenascin-C、SPARC、osteopontin 等) からみた NCRT 治療抵抗性獲得機序を外科病理学的に検討

4. 研究成果

UICC-T3、T4 の局所進行膵癌に対して、gemcitabine (GEM)を用いた化学放射線療法 (GEM-CRT) を 2005 年 2 月から 130 例以上に施行した。このうち治療前の EUS-FNAB 検体を用いた免疫組織染色にて hENT1 発現を検討し得た 51 例 (UICC - T3:28 例、T4 : 23 例) を対象に、治療前の hENT1 発現と GEM - CRT との治療効果を検討したところ、hENT1 陽性の切除例は、生存期間中央値 (MST) が 30 ヶ月以上と著明な延長を示していたのに対して、hENT1 陰性の切除例では約 9 ヶ月の MST であった。すなわち、膵切除を施行したにもかかわらず、非切除例とほぼ同等の成績であり、この成績を発表した (Pancreas. 2016 45 : 761 - 771)。

Overall survival after initial treatment UICC T3 patients



*: P < 0.001 vs. hENT1 negative. #: P < 0.001 hENT1 negative with resection.

また 2011 年以後は膵癌に対する S-1 の効果が明らかとなったため、GEM / S-1 CRT を 120 例以上に施行しているが、この GS-CRT 症例においても、治療前の EUS-FNAB 検体を用いた hENT1 発現の検討を行い、さらに dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 発現についても検討した。EUS-FNAB 検体は、膵癌診断に用いた残りの検体を使用した。hENT1 と DPD はそれぞれ 79.2% (76 / 95), 16.1% (58 / 95) で評価可能であった。hENT1 は 67.1% (51 / 76) が陽性であり、DPD は 27.6% (16 / 58) が陽性であった。hENT1 陽性例は

MST 25 ヶ月と陰性例の 14 ヶ月に比べて有意に予後延長しており、また DPD においても陰性例は陽性例に比して有意に予後延長していた (MST : 33 ヶ月 vs. 14 ヶ月)。さらに生存率に寄与する因子を多変量解析にて検討したところ、hENT1 と DPD のみが有意な因子であり、GS-CRT 症例においても、治療開始前の EUS-FNAB 検体を用いた抗癌剤耐性遺伝子発現の検討の有用性を証明し得た。

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 1 件)

Yamada R, Mizuno S, Uchida K, Yoneda M, Kanayama K, Inoue H, Murata Y, Kuriyama N, Kishiwada M, Usui M, Ii N, Tsuboi J, Tano S, Hamada Y, Tanaka K, Horiki N, Ogura T, Takei Y, Katayama N, Shiraishi T, Isaji S.

Human Equilibrative Nucleoside Transporter 1 Expression in Endoscopic Ultrasonography-Guided Fine-Needle Aspiration Biopsy Samples Is a Strong Predictor of Clinical Response and Survival in the Patients With Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Undergoing Gemcitabine-Based Chemoradiotherapy. Pancreas. 2016 May-Jun;45(5):761-771. (査読有り)

〔学会発表〕(計 3 件)

Yamada R, Mizuno S, Inoue H, Murata Y, Kuriyama N, Kishiwada M, Usui M, Isaji S. Immunohistochemical expression of hENT1 and DPD in EUS-FNAB samples before gemcitabine +S1-based chemoradiotherapy for pancreatic ductal adenocarcinoma: technical feasibility and prognostic significance. The Joint Conference of the 47th annual meeting of the Japan Pancreas Society (JPS) and the 20th meeting of the International Association of Pancreatology (IAP) 2016. 8/5 仙台国際センター(宮城県・仙台市)

山田玲子、水野修吾、伊佐地秀司 局所進行膵癌の EUS-FNAB 検体中 hENT1 発現は GEM-CRT の治療効果と予後を予測する日本膵臓学会 2014.7/11 北九州国際センター(福岡県・小倉)

山田玲子、井上宏之、伊佐地秀司 EUS-FNAB 検体中 hENT 1 発現による局所進行膵癌 gemcitabine 併用化学放射線療法の予後予測 日本消化器病学会 2013.10/9 グランドプリンス新高輪(東

京都・港区)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊佐地秀司 (ISAJI Shuji)
三重大学・医学系研究科・教授
研究者番号：70176121

(2) 研究分担者

水野修吾 (MIZUNO Shugo)
三重大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：70335131

山田玲子 (YAMADA Reiko)
三重大学・医学部・助教
研究者番号：80571629

(3) 連携研究者

(4) 研究協力者

()