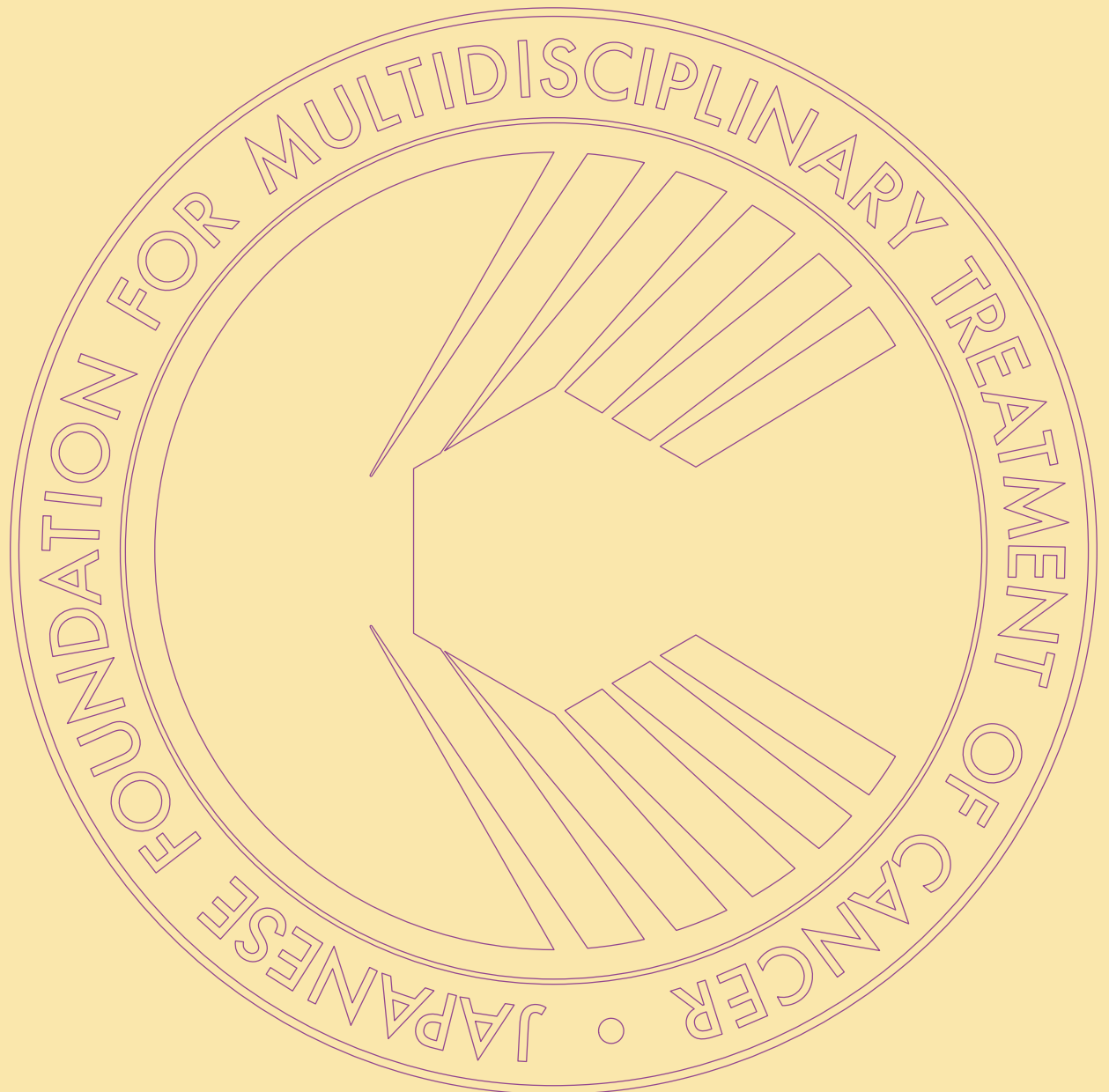


Advances in Cancer Treatment

がん治療のあゆみ

2018/第38回一般研究助成



巻 頭 言

理事長 前 原 喜 彦

公益財団法人がん集学的治療研究財団は、がんの集学的治療に関する研究を助成援助すると共に、これに関する成果の統計解析の評価を行い、患者に優しく且つ患者の望む治療効果をより効率的に実現する治療法を確立し、もって国民の健康の向上に貢献することを目的として、1980年（昭和55年）に設立されました。

財団の主な事業として3つ挙げられます。1つ目は、多施設共同臨床研究（JFMC 研究）の実施で、がんの治療法について多施設共同臨床研究をこれまで51企画し、実施してきました。2つ目は、市民公開講座の開催で、公益事業の一環として毎年行っております。3つ目が、一般研究の助成で、がんの集学的治療に関する研究を一般から募集し、審査の上、助成金を助成しています。

本財団は、1980年の設立当初から、一般研究助成事業を開始し、2018年までの39年間で合計2,389件の応募を受け、一般研究選考委員会で厳重に審査した結果、497件に対して、総額6億5,160万円の助成を行ってまいりました。対象課題は、臨床応用が可能となりうる「癌の集学的治療」に関する研究で、これに関連する研究、たとえば患者の負担を軽減するための研究、患者に優しい癌薬物療法、予後因子の検索、チーム医療の構築、近い将来展開が期待される基礎的研究、などの研究も含まれています。

本日お届けしました「がん治療の歩み38号」は、平成29年度受賞者の研究成果の報告です。応募件数48件の中から厳選された6件の受賞であり、いずれもわが国トップレベルの最先端の研究です。対象臓器も食道、胃、大腸、肝、膵、肺、脳と多彩で、時代に即した研究内容で興味深い結果が得られています。本冊子は本財団が1980年の設立当初から開始した「一般研究助成事業」の意義を広く周知する貴重な報告書ですので、ご高覧頂ければ幸いです。

さらに、当財団としては、今まで実施してきた臨床試験の登録情報をもとにして、データベース（DB）事業を行うことを計画しています。昨今ビックデータが注目されていますが、がん薬物療法のDB化は特に重要な社会的インフラの整備となり、この事業は、2018年の厚生労働省臨床効果データベース整備事業として採択されました。

特に当財団には、大腸癌の補助化学療法に関しPhase III試験を含め12,000例以上の登録情報が残されており、これを一元的にDB化することで、米国や欧米が構築しているACCENTデータベース（結腸癌補助化学療法に関する米国と欧州の臨床試験DB）と統合したいと考えています。臨床試験の登録情報を用いた大規模データベースでは、症例数の多さと内容の正確さを生かし、エンドポイントの妥当性や、年齢や人種による薬物の効果の違いなどを詳細に解析することで、わが国と欧米の大腸癌が生物学的に同じなのか、違うのかという長年の命題に答えが出るのではないかと期待しています。

最後に、平成30年度の一般研究助成金授賞式には財団理事・役員、選考過程でご尽力頂きました選考委員の先生方にもご臨席賜りましたこと、心より感謝申し上げます。また、ご祝辞を賜りました公益財団法人がん研究会有明病院院長の佐野武先生には、心からの御礼を申し上げます。優れた研究を推進する受賞者の方々、ご推薦いただきました施設代表者の先生方、多くの方々の努力を、患者さんを第一に考えるがん治療、公益に繋げて行ければ幸いです。今後とも当財団へのご支援、ご指導を賜りますよう、何卒宜しくお願い申し上げます。

平成31年 3月31日

選 考 経 過 報 告

一般研究選考委員会

選考委員長 掛 地 吉 弘

選考経過を簡単にご報告申し上げます。

対象課題として、臨床応用が可能となりうる「癌の集学的治療」に関する研究を募集し、51件の応募を頂きました。応募締め切りは8月31日で、全ての応募書類のコピーを事務局より全ての選考委員に送付し、事前評価をしていただきました。その事前評価では、絶対評価のほかに評価が偏らないよう評価配分を定めた相対評価で採点をお願いしております。その選考結果を事務局で集計し、去る10月4日に第43回一般研究選考委員会を開催しました。選考委員が上位から一題ずつ議論を充分に行って、厳正に評価を行いました。この選考委員会議事録は、公平性及び透明性を考慮し、経緯や理由を記録し、保存しております。

その結果、6件の応募課題を助成対象候補として理事会に上申し、承認頂きました。

助成金を受領される先生方をお願いします。

中間報告となるかもしれませんが、1年後の本式典にて研究結果を発表していただきます。

また、研究論文を発表される際には「がん集学的治療研究財団助成金」の補助を得た旨を明記して頂くようお願いします。先生方の業績に加わるとともに、財団からの助成金が癌の治療研究に役立ち、社会に貢献しているものと推察しております。本財団は公益法人ですので、acknowledgementを付した論文を刊行いただくことは、重要な意味を持っております。

最後になりましたが、助成される6名の先生方、今回は本当におめでとうございませう。またこの素晴らしい先生方をご推薦いただきました施設代表者の先生方にも、厚くお礼申し上げます。

がん治療のあゆみ 目次

巻頭言	理事長 前原喜彦
選考経過報告	一般研究選考委員会・選考委員長 掛地吉弘
●生体肝移植による進行肝臓に対する至適治療適応拡大	池上 徹 1 九州大学病院 消化器・総合外科
●血中遊離 DNA を用いた肺癌術後微小癌遺残の検出に関する研究	後藤 太一郎 6 山梨県立中央病院 肺がん・呼吸器病センター
● <i>IDH1</i> 変異が及ぼす DNA 修復機構変化の解明と合成致死に基づく新規治療法の開発	立石 健 祐 11 横浜市立大学大学院医学研究科 脳神経外科学講座
●消化器癌におけるサイトカインシグナルの機能解析	谷口 浩 二 16 慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学
●腫瘍由来血中遊離 DNA を用いたリキッドバイオプシーの結果に基づく切除不能・切除境界膵臓に対する集学的治療の個別化への試み	畠 達 夫 21 東北大学大学院医学系研究科 消化器外科学分野
●活性酸素安定効果を有する抗リウマチ薬サラゾスルファピリジンを併用した、食道癌に対する新規放射線治療の開発	増田 隆 明 25 九州大学病院別府病院 外科

生体肝移植による進行肝臓に対する至適治療適応拡大

池上 徹*

要旨 肝臓に対する肝移植の適応判断基準に関して新たなマーカーの導入が期待されていた。最近、LMR（リンパ球単球比）が癌周囲免疫環境を介して腫瘍進展と深く関わっている可能性が示唆された。本研究は肝細胞癌に対する生体肝移植を施行した症例216例を対象とした。低MLR（ <2.75 , $n=90$ ）群は高MLR（ ≥ 2.75 , $n=126$ ）群に比しMELDスコアや肝臓関連腫瘍マーカー値が高く、病理学的ミラノ基準外症例も有意に多く含んでいた。移植後5年無再発生存率は高MLR群および低MLR群でそれぞれ71.3%および95.6%であった。またミラノ基準外症例（ $n=72$ ）での、移植後5年無再発生存率は高MLR群および低MLR群でそれぞれ85.2%および44.8%であり、低LMRは最も重要な再発危険因子の一つであった。また低LMR群では局所においてもCD3/CD68陽性細胞比が低値であった。LMRは癌周囲免疫環境を反映する因子であり、生体肝移植による進行肝臓に対する至適治療適応拡大評価に有用な因子である。

はじめに

1990年代中期まで、肝臓に対する肝移植成績は5年生存率で30%前後と極めて不良であり同治療は相対的禁忌あるいは基本的に不適応であると考えられてきたが、1996年にMazzaferroら¹⁾により報告されたミラノ基準の導入は、肝臓に対する肝移植成績を実現することが可能であることを世界に示した。しかしながら、腫瘍の個数と大きさのみでは移植後再発ハイリスク群の除外は容易ではなく、それら物理的指標に加えて腫瘍マーカーを含めた適応基準が報告されるに至った。我々は腫瘍径 ≥ 5 cmかつPIVKA-II ≥ 300 mAU/mlの症例以外の肝臓を肝移植の適応とする九大基準²⁾を報告し、腫瘍マーカーを選択基準に加えることで生物学的悪性度を考慮し、再発症例をより正確に予測することが可能であることを報告した。Kaidoら³⁾も腫瘍数10個以内かつ腫瘍最大径 ≤ 5 ccかつPIVKA-II ≤ 400 mAU/mlを肝臓に対する肝移植適応基準とする京都基準を提唱し、その基準では脈管侵襲や低分化症例を除外することにより、良好な成績を得ることが可能であると報告した。しかしながら、上記基準に於いても肝移植後再発症例は存在し、また肝移植による治療機会を除外された症例の存在も否定はできない状況であり、物理的指標、腫瘍マーカーにつぐ新たな指標の開発導入が期待される状況である。加え同基準は移植後肝臓再発を完全に予測できるものではない。最近Yang⁴⁾らにより、LMR（lymphocyte monocyte ratio, リンパ球単球比）が肝臓に対する切除後再発に強く関わる因子であることが報告され、腫瘍周囲の微小免疫環境が腫瘍の発育と進展さらには治療後再発と深く関わっている可能性が示唆された。癌周囲微小環境に注目し、その役割と肝移植後肝臓再発の関わりに関して明らかにすることを計画した。

対 象

本研究は1997年7月から2018年5月までに九州大学消化器・総合外科にて生体肝移植を施行した成人レシピエントのうち、病理学的に肝細胞癌の存在が明らかとなった216例を対象とした。肝臓に対する肝移植の適応は、腫瘍径 ≥ 5 cmかつPIVKA-II ≥ 300 mAU/mlの症例以外の肝臓を肝移植の適応とする九大基準³⁾とし、ミラノ基準外症例に対しても十分なインフォームドコンセントにて自発的同意が得られれば保険適応外ではあるが治療適応とした。全ての生体肝移植症例は九州大学肝移植適応委員会にて承認され

*九州大学病院 消化器・総合外科

た症例である。

方 法

肝癌に対して生体肝移植を行った成人レシピエント症例を、高 LMR 群 (≥ 2.75 , $n=126$) と低 LMR 群 (< 2.75 , $n=90$) の 2 群に分け、臨床病理学的背景因子および、生存率を比較した。また切除標本 ($n=166$) において、リンパ球 (CD3) とマクロファージ (CD68) を免疫組織化学染色にて検出し、LMR 値との関連を評価した。最後に移植後肝癌再発症例における予後因子としての LMR の評価も同様に行った。統計値は中央値を用い、統計学的手法として Chi-square 検定, Kaplan-Meier 法および Log-rank 検定, Cox 比例ハザード検定を用いた。

表 1 高 LMR 群および低 LMR 群間での臨床病理学的因子の比較

因 子	高 LMR 群 ($n=126$)	低 LMR 群 ($n=90$)	p 値
臨床因子			
レシピエント年齢 (歳)	58 (21-73)	57 (41-76)	0.26
レシピエント性別 (男/女)	69/57	55/35	0.35
ドナー年齢 (歳)	35 (20-62)	36 (20-62)	0.75
左葉グラフト	75 (59.5%)	48 (53.3%)	0.43
GV/SLV (%)	41.0 (26.7-67.6)	40.5 (23.6-57.4)	0.64
MELD Score	12 (0-26)	15 (2-33)	< 0.01
Child Pugh C	67 (53.2%)	66 (73.3%)	< 0.01
HCV-Ab (+)	87 (69.1%)	62 (68.9%)	0.98
AFP (ng/mL)	248 (2-8077)	1642 (1-43107)	0.01
PIVKA-II (mAU/mL)	116 (3-1928)	582 (7-13691)	< 0.01
腫瘍径 (cm)	2.0 (0-6.6)	2.3 (0-7.0)	0.18
腫瘍個数 (個)	4 (0-100)	16 (0-400)	0.02
画像的ミラノ基準外	37 (29.4%)	35 (38.9%)	0.14
病理学的因子			
腫瘍径 (cm)	2.1 (0-7.8)	2.5 (0.2-7)	0.01
腫瘍個数 (個)	6 (0-113)	19 (1-438)	0.02
脈管侵襲あり	95 (75.4%)	61 (67.8%)	0.21
病理学的ミラノ基準外	51 (40.5%)	54 (60.0%)	< 0.01

表 2 肝癌に対する生体肝移植後の生存に関する因子

因 子	全生存		無再発生存	
	Odds 比	p 値	Odds 比	p 値
年齢 (>60)	1.667	0.28	1.291	0.68
性別 (男)	2.948	0.03	0.912	0.87
HBs-Ag (+)	0.88	0.88	0.78	0.84
HCV-Ab (+)	0.127	0.12	0.555	0.51
Child C	0.752	0.59	0.375	0.15
MELD score (>20)	4.769	0.01	3.079	0.20
AFP (>500ng/mL)	0.924	0.87	1.728	0.36
PIVKA II (>100mAU/mL)	1.092	0.85	1.943	0.31
腫瘍径 (>3 cm)	1.017	0.96	1.906	0.21
腫瘍個数 (>4)	1.679	0.27	2.276	0.16
低分化	0.954	0.91	3.777	0.04
脈管侵襲	2.331	0.08	2.651	0.18
高 LMR (≥ 2.75)	0.6773	0.51	2.844	0.19
低 LMR (< 2.75)	4.822	< 0.01	4.128	0.02

結 果

高 LMR 群 (≥ 2.75 , $n=126$) と低 LMR 群 (< 2.75 , $n=90$) 間における臨床的および病理学的因子の比較を行った結果, 低 LMR 群は高 LMR 群に比し MELD score (15 vs. 12, $p<0.01$) が高く, Child C 症例 (73.3% vs. 53.2%, $p<0.01$) を多く含み, 術前 AFP (1642ng/mL vs. 248ng/mL, $p=0.01$), pIVKAI (582mAU/ml vs. 116mAU/ml, $p<0.01$) が高く, 画像診断上の腫瘍個数 (16 vs. 4, $p<0.01$) が統計学的に有意に多いことが明らかとなった。一方画像診断上の腫瘍最大径あるいはミラノ基準外症例比率には有意差は認めなかった。また病理学的因子に関しては, 低 LMR 群は高 LMR 群に比し病理学的腫瘍径 (2.5cm vs. 2.1cm, $p=0.01$) が大きく, 腫瘍個数 (19個 vs. 6個, $p=0.02$) が多く, 脈管侵襲率には有意差は認めなかったものの, 病理学的ミラノ基準外症例 (60.0% vs. 40.5%, $p<0.01$) を有意に多く含むことが明らかとなった(図1)。移植後5年無再発生存率は高 LMR 群および低 LMR 群でそれぞれ71.3% および95.6% ($p<0.01$), 移植後5年生存率はそれぞれ64.6%および90.7% ($p<0.01$) であった。またミラノ基準外症例 ($n=72$) に限って解析すると, 移植後5年無再発生存率は高 LMR 群および低 LMR 群でそれぞれ85.2%および44.8% ($p<0.01$), 移植後5年生存率はそれぞれ86.1%および38.4% ($p<0.01$) であった。さらにミラノ基準外症例 ($n=72$) における予後規定因子に関して多変量解析を行うと, 全生存率に関しては男性(Odds 比 2.948, $p=0.03$), MELD スコア(Odds 比 4.769, $p=0.01$), 低 LMR(Odds 比 4.822, $p<0.01$) がリスク因子として, また無再発生存に関しては病理学的低分化成分の含有 (Odds 比 3.777, $p=0.04$) および低 LMR (Odds 比 4.128, $p=0.02$) がリスク因子として抽出され, 低 LMR (< 2.75) は独立予後規定因子であることが明らかとなった。また, 高 LMR 群 ($n=99$) および低 LMR 群 ($n=67$) において CD3 および CD68 の免疫染色にてそれぞれ腫瘍内 T 細胞数およびマクロファージ数を評価すると, 低 LMR 群では局所において有意に CD3 陽性細胞が少なく ($p<0.01$), CD68 陽性マクロファージを多く含む ($p=0.03$) ことが明らかとなった (図1)。

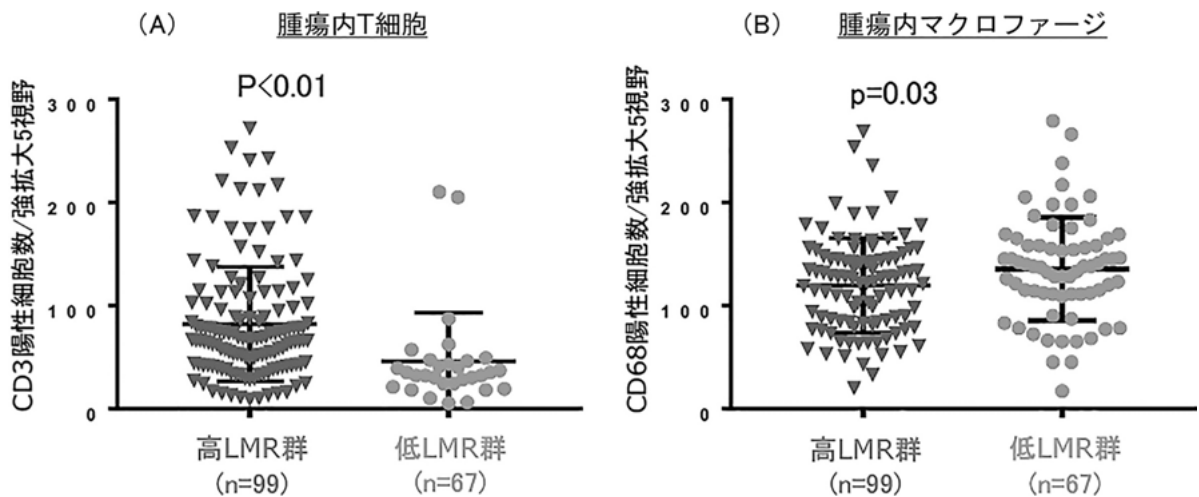


図1 高 LMR 群および低 LMR 群における腫瘍内の T 細胞(A)およびマクロファージ(B)

肝移植後の肝癌再発は26例に認め, 初再発部位は肺 ($n=9$), リンパ節 ($n=6$), 骨 ($n=5$), 肝臓 ($n=4$), 腹膜 ($n=3$) および副腎 ($n=1$) であった。再発後症例の5年および10年生存率はそれぞれ38.8% および33.2%であった (図2)。再発症例の中でも再発部を外科的切除可能であった症例の5年生存率は45.9%と, 切除不能症例の5年生存率は0%であるのに比し, 有意に良好であった ($p<0.01$, 図2)。再発後の生存に関しては, 再発時 AFP ≥ 300 ng/mL ($p=0.01$), 低 LMR (< 2.75), 外科的再発巣の切除なし ($p<0.01$) が負のリスク因子として含まれていた (表3)。

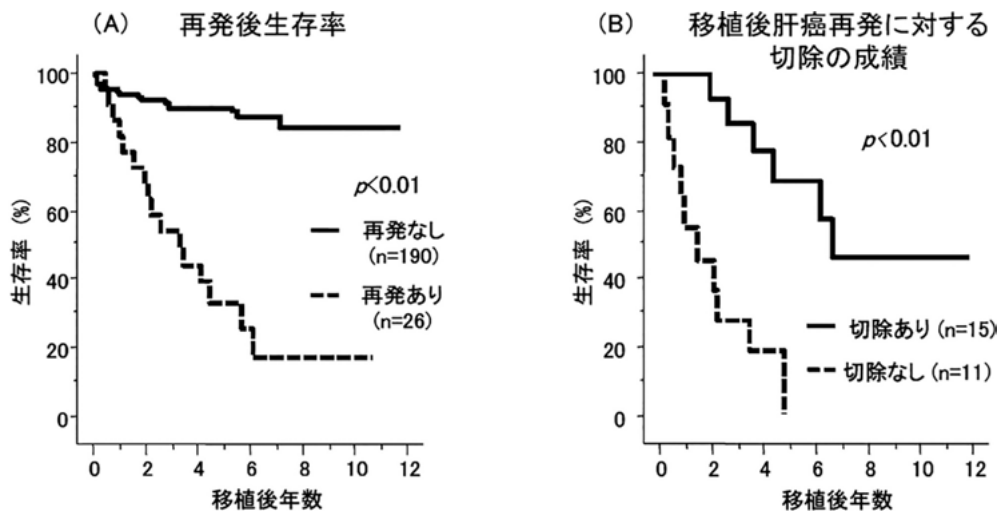


図2 肝癌に対する簡易正午の再発後生存率(A)および再発に対する外科的切除の成績(B)

表3 肝移植後肝癌再発後の生存に関する因子

因子	5年生存率		p値
	あり	なし	
ミラノ基準内	53.3	47.4	0.59
九州大学基準内	53.6	33.4	0.65
低分化	45.7	50.5	0.91
顕微鏡的血管侵襲	19.7	38.1	0.44
補助化学療法	27.3	25	0.48
インターフェロン	53.3	0	0.01
AFP (再発) ≥ 300 ng/ml	0	28.4	0.01
PIVKA (再発) ≥ 300 mAU/ml	0	31.4	0.12
LMR < 2.75	0	43.6	< 0.01
肝臓外再発	22.6	33.3	0.98
移植後1年以内の再発	12.2	40	0.09
外科的再発巣切除	41.7	0	< 0.01

考 按

現在まで様々な肝癌に対する肝移植適応判断基準が報告されてきたが、それらのほとんどの構成要素は、腫瘍径、腫瘍個数、そして腫瘍マーカーで構成されていた。生体肝移植では、健康な生体ドナーをドナーにするという極めてリスクの高い特殊な要素が関与しているため、より厳格に再発あるいは非再発を予測できるような因子が望まれていた¹⁾⁻³⁾。今回明らかにしたLMRは、腫瘍の微小環境における宿主因子といういままでにない新しい観点から腫瘍の動向を観察あるいは予測するマーカーであり、その意義に関しては非常に期待されている。

腫瘍が賛成するサイトカインやケモカインは局所の炎症を惹起することにより腫瘍の進展を助けるが、その一方で腫瘍に浸潤するリンパ球は抗腫瘍的に働き、さらにリン腫瘍の抗原性を活性化することが報告されている⁵⁾。また逆にリンパ球が現象している状況は肝癌の再発に関与することも報告されている⁶⁾。本研究では、局所のリンパ球マクロファージ比は血液中の同比と非常に良好に相関しており、血液中のLMRの測定が癌局所との関係を予想できることは非常に興味深い。血液中に存在する単球は腫瘍関連マクロファージに分化することで癌の発生や進展転移に関わっていることも明らかとなっている⁷⁾。そのメカニズムに関しては、腫瘍関連マクロファージが腫瘍細胞とともにPDL1を介して免疫細胞に対して抑制的に働いているという報告もある⁸⁾。

おわりに

肝臓に対して肝移植施行前のレシピエント血液における LMR は、容易に測定可能かつ肝臓における癌周囲微小環境を反映する可能性を有する因子である。LMR は生体肝移植による進行肝臓に対する至適治療適応拡大評価に有用な因子である。

文 献

- 1) Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F, Ammatuna M, Morabito A, Gennari L: Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* **334**: 693–9, 1996.
- 2) Taketomi A, Sanefuji K, Soejima Y, Yoshizumi T, Uchiyama H, Ikegami T, Harada N, Yamashita Y, Sugimachi K, Kayashima H, Iguchi T, Maehara Y: Impact of des-gamma-carboxy prothrombin and tumor size on the recurrence of hepatocellular carcinoma after living donor liver transplantation. *Transplantation* **87**: 531–7, 2009.
- 3) Kaido T, Ogawa K, Mori A, Fujimoto Y, Ito T, Tomiyama K, Takada Y, Uemoto S: Usefulness of the Kyoto criteria as expanded selection criteria for liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Surgery* **154**: 1053–60, 2013.
- 4) Yang T, Zhu J, Zhao L, Mai K, Ye J, Huang S, Zhao Y: Lymphocyte to monocyte ratio and neutrophil to lymphocyte ratio are superior inflammation-based predictors of recurrence in patients with hepatocellular carcinoma after hepatic resection. *J Surg Oncol* **115**: 718–28, 2017.
- 5) Yao W, He JC, Yang Y, Wang JM, Qian YW, Yang T, Ji L: The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* **7**: 7525, 2017.
- 6) Sasaki A, Iwashita Y, Shibata K, Matsumoto T, Ohta M, Kitano S: prognostic value of preoperative peripheral blood monocyte count in patients with hepatocellular carcinoma. *Surgery* **139**: 755–64, 2006.
- 7) Nagai S, Abouljoud MS, Kazimi M, Brown KA, Moonka D, Yoshida A: peritransplant lymphopenia is a novel prognostic factor in recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Transplantation* **97**: 694–701, 2014.
- 8) Kuang DM, Zhao Q, Peng C, Xu J, Zhang Jp, Wu C, Zheng L: Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma foster immune privilege and disease progression through pD-L1. *J Exp Med* **206**: 1327–37, 2009.

血中遊離 DNA を用いた 肺癌術後微小癌遺残の検出に関する研究

後藤 太一郎*

要旨 肺癌手術では肉眼的に肺癌を完全に切除するが、顕微鏡的に肺癌が遺残する可能性がある。本研究では、このような体内の腫瘍遺残あるいは微小遠隔転移の存在を高感度で診断する方法の開発を目的とした。原発巣の遺伝子変異解析を行い、原発巣と相同の遺伝子変異が血中に検出された場合、circulating tumor DNA と判定し、その経時的变化を解析した。術後に ctDNA が検出された症例は、後日、全例再発を認めた。術前に ctDNA が検出された症例でも、術後に検出感度以下となった場合、再発なく、長期生存が可能であった。術後 ctDNA は高感度の再発予測因子であり、本法では従来の臨床的再発診断（画像、腫瘍マーカー）よりも極めて早期の段階で再発の予測が可能であった。

はじめに

肺癌手術後の再発は、本邦で手術を受けた患者全体の約30%に発生している。本研究では、術後補助化学療法の個別化医療を実現すべく、血中 circulating tumor DNA（以下、ctDNA）を用いて再発高リスク群を術後早期に判定することを目的とした。また、ctDNA をバイオマーカーとして利用し、従来の再発診断法よりも、高感度、簡便、低侵襲な診断法を構築することを目的とした。

対象と方法

当科で肺癌手術を施行し、病理病期 IIIA であった患者を対象とした。術後補助化学療法の適応は原則として肺癌診療ガイドラインに従い、施行の有無により、症例を除外しなかった。外科切除を施行した肺癌症例から原発巣を採取した。原発巣のホルマリン固定パラフィン包埋標本からレーザーキャプチャーマイクロダイセクション法により癌細胞を回収し、DNA を抽出した。肺癌関連53遺伝子の全エクソン領域（6万8046アミノ酸）を解析する Assay 系を *in house* で作成し、DNA 検体を次世代シーケンス解析に供した¹⁾⁻³⁾。一方、バフィーコート由来 DNA から生殖細胞系列変異を確認したうえで、血漿由来の DNA からがんの体細胞変異を探索した。肺癌原発巣と相同の mutation を ctDNA と定義し、その経時的推移を解析した。本研究では、PCR エラー、シーケンスエラーで生じる非特異的な変異（偽陽性）の検出を抑え、腫瘍由来の低頻度変異の高感度検出を可能とする分子バーコーディング技術を使用し、肺癌特異的な ctDNA を検出した⁴⁾。

術前に1回、術後は適宜外来で採血を行い、血清腫瘍マーカーおよび ctDNA を測定した。外来診療で通常の臨床検査を行い、再発の有無につき慎重に経過観察した。ctDNA による微小癌遺残の検出能を評価するため、以下の評価項目を設定した。

- i) ctDNA の有無と再発有無との相関
- ii) 再発予測因子に関する多変量解析
- iii) 再発症例においては、経時的なアレル頻度の推移を検討し、再発が確認できる時期に関して、画像、腫瘍マーカー、ctDNA の3群間で比較検討

*山梨県立中央病院 肺がん・呼吸器病センター

結 果

病理病期 IIIA の肺癌患者54例を解析対象とした。54例中、10例において術前採血検体で ctDNA を検出した。ctDNA 検出群と ctDNA 非検出群で患者・腫瘍の特徴を比較すると、年齢、性別、喫煙歴、手術根治度、病理組織型、病理学的脈管浸潤の有無、補助化学療法施行の有無に有意差を認めなかったが、腫瘍径は ctDNA 検出群で有意に大きかった（表 1 参照）。

表 1 術前 ctDNA 検出の有無に応じた患者背景

		Preoperative ctDNA(-)	Preoperative ctDNA(+)	p value
Number of patients		44	10	-
Male/Female		34/10	7/3	NS
Age		68.4 ± 1.8	65.6 ± 4.0	NS
Smoking habit	smoker/non-smoker	28/16	6/4	NS
Tumor size		35.5 ± 4.7	46.5 ± 10.6	<0.05
Surgical curativity	curative/non-curative	41/3	8/2	NS
Histology	Ad/Sq/others	28/14/2	6/3/1	NS
Pathological vessel invasion	present/absent	20/24	5/5	NS
Pathological lymphatic invasion	present/absent	22/22	6/4	NS
Adjuvant chemotherapy	performed/not performed	41/3	8/2	NS

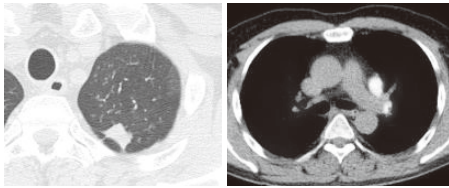
表 1 再発に影響を及ぼす因子の多変量解析

Variables	HR (95%CI)	p value
年齢		
- 70	1 (Ref.)	
71 - 80	1.08 (0.34 - 7.36)	0.71
81 -	1.22 (0.56 - 8.31)	0.55
性別		
男性	1 (Ref.)	
女性	0.96 (0.48 - 7.98)	0.84
喫煙 (ref. 非喫煙)	1.56 (0.61 - 8.54)	0.74
病理組織型		
腺癌	1 (Ref.)	0.6
扁平上皮癌	6.94 (0.34 - 163.65)	0.2
その他	3.05 (0.05 - 295.07)	0.59
腫瘍径 (mm)		
- 30	1 (Ref.)	
31 - 40	1.12 (0.39 - 7.88)	0.87
41 -	6.05 (1.06 - 23.55)	0.03
病理学的脈管侵襲		
無	1 (Ref.)	
有	1.01 (0.33 - 8.69)	0.96
術後腫瘍マーカー		
正常	1 (Ref.)	
高値	1.44 (0.37 - 6.60)	0.56
術後 ctDNA		
非検出	1 (Ref.)	
検出	29.8 (11.57 - 69.41)	<0.001

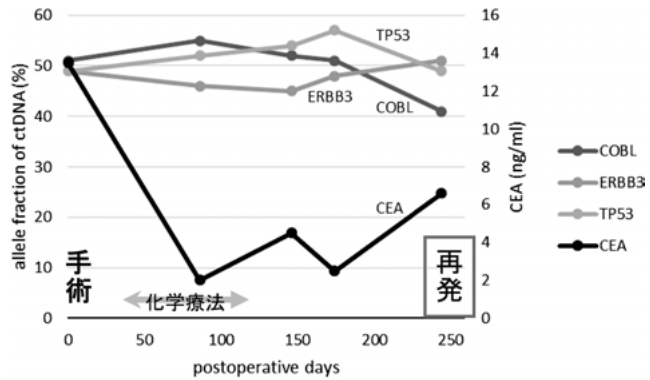
術前 ctDNA 検出群 (n=10) の内, 7 例で術後も ctDNA を検出し, 全 7 例とも再発した (図 1 A-B 参照)。残 3 例では, 術後 15 病日以降, ctDNA は検出されず, 3 例とも無再発生存中である (図 1 C 参照)。

再発症例において, 従来の腫瘍マーカー (CEA, SCC など) は, 術後に正常化する症例が多かったが, ctDNA に関しては, 術後初回の測定 (術後 10 病日~80 病日) でも術前とほぼ同様の高値であった (図 1 A-B 参照)。また, 臨床的に再発が確認できるに至るまで, allele fraction (遺伝子座頻度) は術前とほぼ変わらず, 高値を維持する傾向があった。すなわち, 術前に ctDNA を検出した患者では, ctDNA の推移を計測することにより, 術後早期に再発の予測が可能であることが示された。

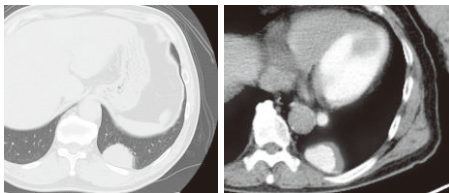
A



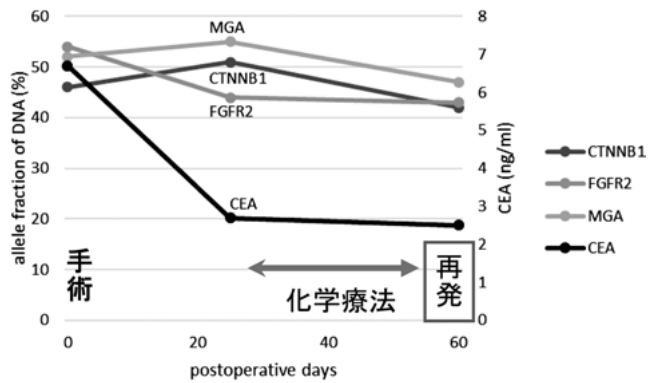
Gene	Mutation	Tumor	Plasma
TP53	p.Glu11Gln	62%	49%
COBL	p.Val910Met	49%	51%
ERBB3	p.Arg1127His	46%	49%
ERBB2	p.Glu770	37%	0%



B



Gene	Mutation	Tumor	Plasma
CTNNB1	p.Met739Ile	48%	46%
FGFR2	p.Arg6Pro	48%	54%
MGA	p.Ala3058Thr	47%	52%
SOX2-O-TISOX2		23%	0%
ARID1A		17%	0%
ATM		16%	0%
KMT2D		13%	0%



C

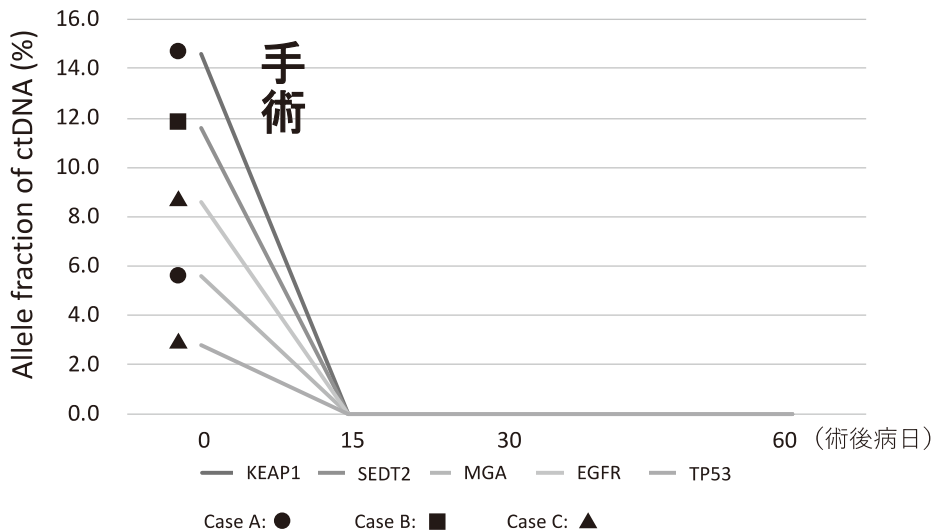


図 1 ctDNA の経時的推移

術前 ctDNA 検出の有無により、無再発生存期間を比較検討すると、ctDNA 検出群では、有意に予後が不良であった (図 2 A 参照)。また、術後 ctDNA 検出の有無により、無再発生存期間を比較検討すると、ctDNA 検出群では、全例が再発しており、有意に予後が不良であった (図 2 B 参照)。

術後の無再発生存期間に影響を及ぼす因子を解析したところ、腫瘍径 ($p=0.03$)、術後 ctDNA 検出 ($p < 0.001$) が有意な因子であった (図 2 C 参照)。

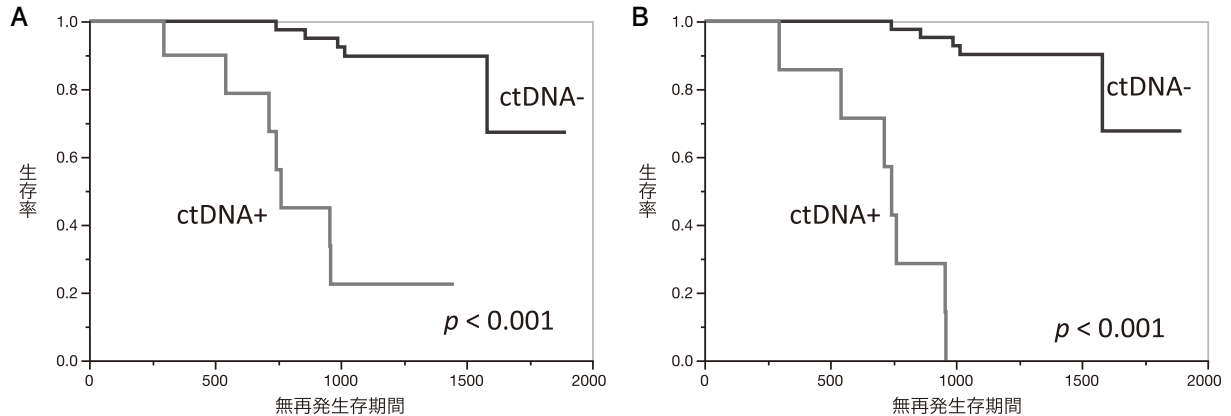


図2 無再発生存期間の解析 (A) 術前 ctDNA 検出の有無 (B) 術後 ctDNA 検出の有無

考 按

肺癌手術後の再発は、本邦で手術を受けた患者の約30%に発生しているが、定期的な外来通院の過程で臨床症状、画像所見、腫瘍マーカー上昇から再発を診断する機会が多い。本研究では、CEA、SCCなどの従来の腫瘍マーカーが多く症例で術後に低下した一方、ctDNAは再発症例において術後も低下せず高値を維持した。術後に癌がmicroのレベルで遺残しsystemic diseaseの状態であれば、手術は局所療法ゆえ、全体に及ぼすdebulkingの効果は限定的なのかもしれない。一方、術前にctDNAが検出された症例でも、術後に検出感度以下になった症例では再発を認めず、半減期が1.5時間とされるctDNAの測定により、術後極めて早期の段階(術後10-80日の時点)で再発が正確に予測できることが示された⁵⁾。ctDNAは潜在的な顕微鏡的転移を反映しており、本法は、従来の再発診断法よりも、高感度、簡便、低侵襲な診断法と言える⁶⁾⁻⁸⁾。

このように、再発高リスク群を術後早期に判定することにより、術後補助化学療法の個別化が可能と考えられる。さらに、早期の再発診断に伴い、早期の治療介入が可能となれば、患者の予後、QOLの改善につながるかもしれない。昨今、免疫チェックポイント阻害剤の臨床応用も急速に進み、肺癌の薬物療法は劇的に変化している⁹⁾。再発高リスク群に対しては、術後早期の段階から免疫チェックポイント阻害剤を使用するなどの新たな治療戦略も今後期待される¹⁰⁾。すなわち、ctDNAは再発時の肺癌病態を包括的に反映しており、微小再発の段階で、病態に応じた標的治療を行えば、再発が顕在化する前に根治的治療を完遂できる可能性がある。

おわりに

本研究は、術後の再発診断を根本的に改善することを意図して現在も進行中である。今後、新たなクリニカルスタジアムを確立し、肺癌手術患者の術後治療成績を総合的に改善すべく、さらに症例解析を進め、今回得た知見を論文文化したいと考えている。

謝 辞

本研究にご理解いただき、ご支援いただいたがん集学的治療研究財団の皆様へ感謝申し上げます。

文 献

- 1) Goto T, Hirotsu Y, Mochizuki H, et al: Mutational analysis of multiple lung cancers: Discrimination between primary and metastatic lung cancers by genomic profile. *Oncotarget* **8**: 31133–43, 2017.
- 2) Nakagomi T, Goto T, Hirotsu Y, et al: New therapeutic targets for pulmonary sarcomatoid carcinomas based on their genomic and phylogenetic profiles. *Oncotarget* **9**: 10635–49, 2018.
- 3) Goto T, Hirotsu Y, Nakagomi T, et al: Detection of tumor-derived DNA dispersed in the airway improves the diagnostic accuracy of bronchoscopy for lung cancer. *Oncotarget* **8**: 79404–13, 2017.
- 4) Newman AM, Lovejoy AF, Klass DM, et al: Integrated digital error suppression for improved detection of circulating tumor DNA. *Nat Biotechnol* **34**: 547–55, 2016.
- 5) Diehl F, Schmidt K, Choti MA, et al: Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* **14**: 985–90, 2008.
- 6) Chaudhuri AA, Chabon JJ, Lovejoy AF, et al: Early Detection of Molecular Residual Disease in Localized Lung Cancer by circulating tumor DNA Profiling. *Cancer Discov* **7**: 1394–403, 2017.
- 7) Dawson SJ, Tsui DW, Murtaza M, et al: Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med* **368**: 1199–209, 2013.
- 8) Tie J, Wang Y, Tomasetti C, et al: circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci Transl Med* **8**: 346ra392, 2016.
- 9) Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al: Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *N Engl J Med* 2018.
- 10) Forde PM, Chaft JE, Pardoll DM: Neoadjuvant PD–1 Blockade in Resectable Lung Cancer. *N Engl J Med* **379**: e14, 2018.

IDH1 変異が及ぼす DNA 修復機構変化の解明と 合成致死に基づく新規治療法の開発

立石 健祐*

要旨 我々はこれまでに研究成果として *IDH1* 変異が NAD⁺合成代謝機構に影響を及ぼし、腫瘍細胞内の NAD⁺値を相対的に低下させることを見出した。本研究では NAD⁺の消費経路に着目し、DNA 修復機構の一つである base excision repair 経路の主要タンパク質である PARP の活性の亢進を通じて NAD⁺を消費するテモゾロミド (TMZ) と NAD 合成阻害剤の併用療法を試みた。その結果 *IDH1* 変異神経膠腫において遺伝子変異特異的に合成致死性が得られた。動物レベルにおいても薬剤併用による相乗効果的な抗腫瘍効果が認められた。更に NAD⁺合成阻害剤の局所投与のための microparticle を開発し、動物モデルにおいて局所投与による抗腫瘍効果を見出した。これらの結果 *IDH1* 変異神経膠腫に対する遺伝子変異特異的な治療法の開発に成功した。

研究目的

原発性脳悪性腫瘍である神経膠腫は人類が未だ克服し得ていない疾患である。神経膠腫に対する治療アプローチとして外科的治療に放射線療法とアルキル化剤であるテモゾロミド (TMZ) の併用が現在の標準治療法である。TMZ による DNA グアニン残基の O6 位のメチル化がもたらす mismatch repair pathway (MMR) の破綻が DNA 損傷を誘導し細胞毒性を発揮するが長期的には再発は必発である。また近年 TMZ の長期投与により DNA の hypermutation に伴う悪性転化を誘導されることが指摘されており、この点からも新たな治療法の確立が急務である。近年の大規模な分子遺伝学的検討により低悪性度神経膠腫及び続発性神経膠芽腫の発生には *IDH1* 遺伝子の変異が極めて重要であることが示され、実際 80% 程度にコドン 132 領域の点突然変異が認められている。申請者らはこれまで、*IDH1* 変異神経膠腫の悪性化に関わる遺伝子を世界に先駆けて見出してきた (Arita H, Tateishi K et al. Acta Neuropathol. 2013, Wakimoto H, Tateishi K et al. Clin Cancer Res. 2014) が、この *IDH1* 変異は終始細胞内に保持され、かつエピゲノム変化や代謝性変化は悪性転化に関わらず維持される。このことから *IDH1* 変異を標的とした治療は悪性度を問わず神経膠腫の有力な治療法になることが期待される。申請者らは、独自に樹立した世界有数の患者由来神経膠腫幹細胞株を用いて *IDH1* 変異腫瘍細胞は野生型と比較して細胞内 NAD⁺値が低値であることを、その原因として *IDH1* 変異により NAD⁺合成の主要経路の酵素である NAPRT 1 が抑制されることを見出した。またこの原理を利用して NAD⁺合成酵素 NAMPT の特異的阻害剤が *IDH1* 変異腫瘍制御に極めて有用であることを示した (Tateishi K et al. Cancer Cell. 2015)。しかしながら生体への応用を考慮した際には安全性、有効性を更に高めた治療法の確立が課題として残っている。NAD⁺値を規定するものとして前述の通り NAD⁺合成経路が重要であるが、別の要因として NAD⁺消費経路が挙げられる。代表的な NAD⁺消費経路として DNA 修復に必要な poly ADP-ribose polymerase (PARP) の活性化などが挙げられる。前述の TMZ は O-6 (10%) のみならずグアニン残基の N-3, N-7 (90%) 位にもメチル基を付加するがこちらは PARP 経路の活性により直ちに修復される為、細胞毒性には寄与しないことが判明している。申請者らはこの修復機構に着目し、TMZ 投与により PARP 依存性に NAD

*横浜市立大学大学院医学研究科 脳神経外科学講座

+消費が生じると仮説を立て、*IDH1* 変異神経膠芽腫に対して TMZ と NAMPT 阻害剤の併用による抗腫瘍効果が増強されるか検討を行うことを本研究の目的に掲げた。

研究方法

1. *in vitro* 実験

A. *IDH1* 変異が及ぼす代謝ストレスの解明

DNA 修復機構には PARP を介した base excision repair (BER) や single strand break repair のみならず double strand break に対する homologous recombination, TMZ によるメチル基負荷後の MMR などがある。最初に *IDH1* 変異神経膠芽腫幹細胞株に対し TMZ 投与を行い細胞毒性効果, NAD⁺消費, PARP 活性などを検討した。また NAD⁺変動が PARP 依存性を明らかにするために PARP 阻害剤を用いた拮抗化が生じるか検討した。

B. TMZ と NAMPT 阻害剤の併用による細胞毒性効果の検討

内因性 *IDH1* 変異神経膠芽腫幹細胞株, *IDH1* 野生型神経膠芽腫幹細胞株を用いて TMZ と NAMPT 阻害剤併用による抗腫瘍効果を CellTiter-Glo アッセイにて検討した。また併用による細胞内 NAD⁺値の変動を NAD/NADH アッセイキットを用いて検討した。

C. 外因性 *IDH1* 変異細胞株を用いた確証実験

併用効果が *IDH1* 変異に基づくものか明らかにする為に、申請者らが樹立したテトラサイクリン誘導下 *IDH1* 変異強制発現神経膠芽腫幹細胞株 (MGG18-*IDH1*-R132H) を用いて細胞毒性効果, NAD⁺変動を検討した。また *NAPRT1* 抑制モデルを作成し、同様の抗腫瘍効果があるか検討した。

D. 細胞毒性効果と MMR 機構や *MGMT* 遺伝子発現との関連性についての検討

併用効果が TMZ 耐性に関連する MMR 遺伝子変異や *MGMT* プロモーター領域のメチル化状態に影響されるか検討するため *MGMT* 高メチル化, 低メチル化細胞を用いて *MSH6* 抑制モデルを作成し抗腫瘍効果を検討した。

E. 細胞毒性メカニズムの検討

細胞毒性がアポトーシス依存性かオートファジー依存性か検討した。FACS, western blotting 法にて解析するとともにアポトーシス, オートファジー阻害剤にて細胞毒性効果に対する拮抗が得られるか検討した。

2. *in vivo* 研究

TMZ と NAMPT 阻害剤による併用療法が *IDH1* 変異腫瘍動物モデルに対する抗腫瘍効果を発揮するか, 更には NAMPT 阻害剤減量下でも同様の効果が得られるか検討した。

研究結果

1. *in vitro* 研究

A. *IDH1* 変異が及ぼす代謝ストレスの解明

IDH1 変異神経膠芽腫幹細胞に対し TMZ を投与したところ, 濃度依存性に細胞毒性を誘導することが判明した。ただし細胞増殖抑制効果は4日目以降に生じ, これは TMZ の薬理作用 (MMR 依存性の futile mismatch repair 機構) によるものと考えられた。一方 TMZ 投与直後より数時間以内に細胞内 PARP 活性の上昇とともに代謝産物である poly ADP-ribose (PAR) が過剰に産生された (図1)。更には PARP 活性と連動し NAD⁺消費が生じることが判明した (図2)。これらの現象は PARP 阻害剤である olaparib にて拮抗が生じたことから PARP 活性依存性であることが判明した。このことは TMZ 投与後急速に生じる DNA メチル基負荷に対する修復機構が潜在的な治療標的となりうることを示唆する結果であった。

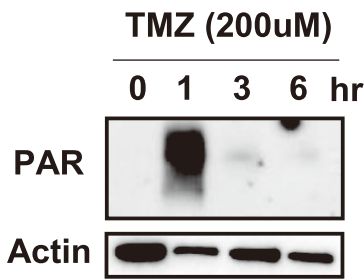


図1 TMZ 投与後の PAR 発現の変化

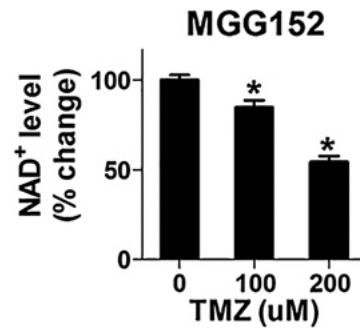


図2 TMZ 投与6時間後に於ける NAD+値の変動

B. TMZ と NAMPT 阻害剤の併用による細胞毒性効果の検討

次に内因性 *IDH1* 変異神経膠芽腫幹細胞株である MGG119, MGG152, BT142, *IDH1* 変異軟骨肉腫細胞株である HT1080 を用いて TMZ と NAMPT 阻害剤を投与したところ、いずれの細胞においても TMZ の濃度依存性に NAMPT 阻害剤との併用効果が生じることが判明した (図3)。この現象は *IDH1* 野生型神経膠芽腫幹細胞株である MGG18, 23, 85, 91, 171 では認められなかったことから、少なくとも *IDH1* 変異細胞においては TMZ と NAMPT 阻害剤の併用効果が期待できることが示唆された。また NAD+ は NAMPT 阻害剤, TMZ 単独と比較し、併用下では強力に抑制されることが併せて判明した (図4)。

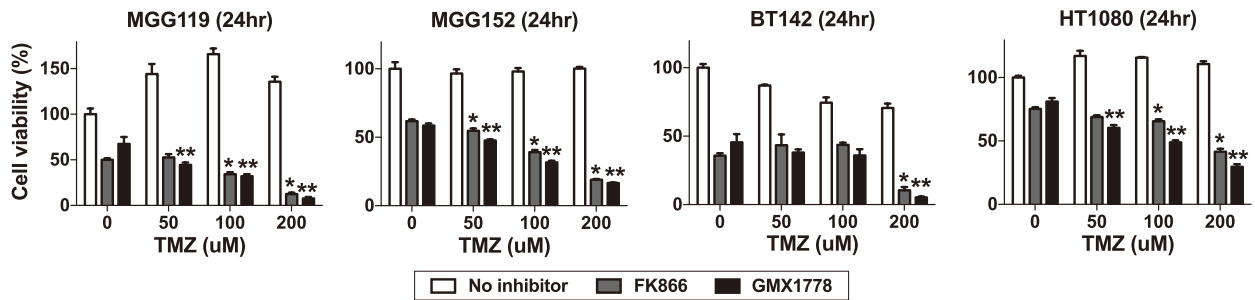


図3 内因性 *IDH1* 変異神経膠芽腫幹細胞株に対する NAMPT 阻害剤と TMZ 併用による抗腫瘍効果

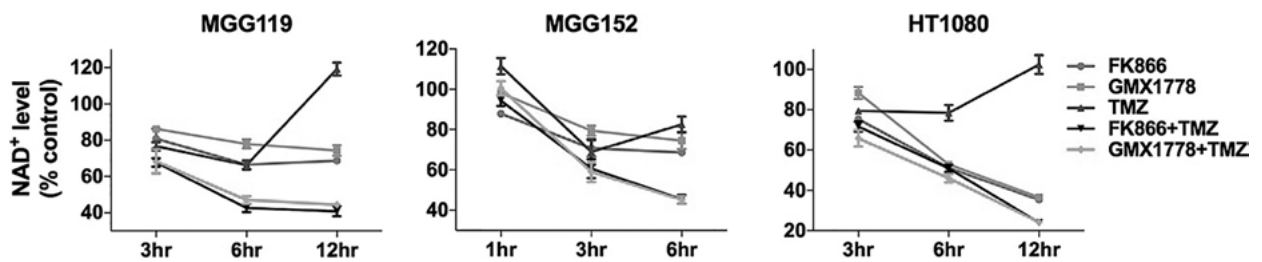


図4 内因性 *IDH1* 変異神経膠芽腫幹細胞株に対する NAMPT 阻害剤と TMZ 単独及び併用下における NAD+値の変動

C. 外因性 *IDH* 変異細胞株を用いた確証実験

MGG18-*IDH*-R132 及び UACC257-*IDH1* 細胞株を作成し併用効果を検証したところ、強制 *IDH1* 変異細胞株において NAMPT 阻害剤の感受性が高まること、更には TMZ との併用効果が有意に認められることが明らかになった (図5)。更に UACC257細胞株に対し shRNA を用いて NAMPT 1 を抑制したところ強制 *IDH1* 変異細胞に於ける薬効と類似した現象が認められたことから、細胞毒性効果は *IDH1* 変異による NAMPT 1 発現の抑制が関与していることが明らかになった。これにより NAMPT 阻害剤と TMZ の併用療法は *IDH1* 変異神経膠芽腫において特に有用な治療法であることが裏付けられた。

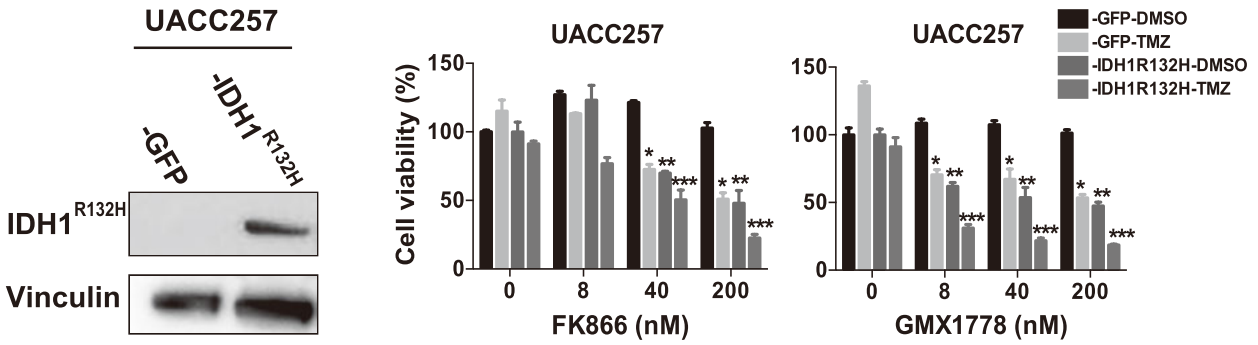


図5 左；強制 *IDH1* 変異細胞モデルの樹立 右グラフ；*IDH1* 変異強制モデル (*IDH-R132H*) とコントロール (*GFP*) における NAMPT 阻害剤単独及び TMZ との併用下における抗腫瘍効果の検討

D. 細胞毒性効果と MMR 機構や MGMT 遺伝子発現との関連性についての検討

MGMT メチル化 (MGG152) 非メチル化 (HT1080) 細胞を用いて主たる MMR 関連遺伝子である *MSH6* を抑制し、TMZ 耐性細胞モデルを作成した。これらの細胞を用いて TMZ と NAMPT 阻害剤の併用療法を検討したところ、いずれも相乗効果が保たれることが判明した。このことは TMZ 耐性及び不応神経膠芽腫においてもこの併用療法の効果が期待されるものであった。

E. 細胞毒性メカニズムの検討

細胞毒性メカニズムとして オートファジーに関連する蛋白発現が亢進していた。またアポトーシス非依存性であることも判明した。さらにオートファジー阻害剤を用いたところ細胞毒性効果に抑制が生じたことから細胞毒性は NAD⁺枯渇によって生じた ATP 産生低下に起因するオートファジーによるものと考えられた。

2. *in vivo* 研究

TMZ と併用することで、低濃度 NAMPT 阻害剤治療が高濃度下での治療効果と同様の抗腫瘍効果が得られるか *IDH1* 変異、野生型細胞株を用いて検討した。*IDH1* 変異腫瘍に対し最初に NAD⁺値を測定したところ、高濃度 NAMPT 阻害剤と比較し TMZ と50%濃度の NAMPT 阻害剤で同レベルの NAD⁺低下が腫瘍組織内で生じていることが判明した。この濃度を用いてマウス *IDH1* 腫瘍に対して抗腫瘍効果が生じるか検討したところ、NAMPT 阻害剤、TMZ 単独治療と比較して併用療法では顕著な抗腫瘍効果が生じることが判明した (図6)。一方 *IDH1* 野生型腫瘍では抗腫瘍効果は認められなかった。

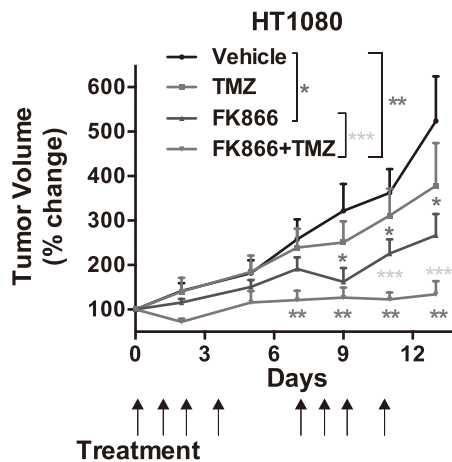


図6 内因性 *IDH1* 変異腫瘍 (HT1080) を用いた動物モデルに於ける抗腫瘍効果の検討

考 察

これまでの研究及び本研究により、NAMPT 阻害剤は *IDH1* 変異神経膠腫に対する強い細胞増殖抑制

効果を有することが明らかになった (Tateishi K et al. *Cancer Res.* 2017)。このことは *IDH1* 変異を標的とした将来の個別化医療として応用可能な治療法であることを示唆するものである。一方で NAMPT 阻害剤の毒性については従来から指摘されており、この毒性を克服しなければ臨床応用は困難な状況にあった。本研究により神経膠芽腫に対する標準化学療法剤である TMZ と NAMPT 阻害剤の併用療法により、*IDH1* 変異腫瘍に対してより強力な抗腫瘍効果が生じるのみならず、NAMPT 阻害剤を減量しても同様の強力な細胞毒性が生じることが判明した。このことはより強力でかつ安全性の高い治療が近い将来展開可能になると期待させる結果である。一方で長期的な薬物治療は困難であることが予想されるため、今後は更に毒性を低減することを目標とする必要があった。具体的には *IDH1* 変異神経膠芽腫の殆どが局所再発を呈することから、NAMPT 阻害剤の局所への投与を目指す必要があった。そこで MIT との共同研究を行い局所投与用の microparticle を開発し、マウス脳腫瘍に局所投与した所著明な抗腫瘍効果が認められた (Shankar GM et al. *PNAS.* 2018)。これにより今後数年以内に *IDH1* 変異神経膠腫に対する臨床応用につなげることを次なる研究目標に掲げている。

結 論

IDH1 変異神経膠腫に対し TMZ と NAMPT 阻害剤の併用療法は遺伝子異常に特異的な治療法である。

論 文 発 表

- 1) Shankar GM, Kirtane AR, Tateishi K et al: "Genotype-targeted local therapy of glioma." *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**(36): 8338–94, 2017.
- 2) Tateishi K, Higuchi F, Miller JJ et al: "Alkylating chemotherapeutic temozolomide induces metabolic stress in IDH1 mutant cancers and potentiates NAD⁺ depletion-induced cytotoxicity." *Cancer Res* **77**(15): 4102–15, 2017.
- 3) Tateishi K, Wakimoto H, Cahill DP: "IDH1 mutation and WHO 2016 diagnostic criteria for adult diffuse gliomas: Advances in Surgical Strategy." *Neurosurgery* **1**;64(CN_suppl_1): 134–8, 2017.

消化器癌におけるサイトカインシグナルの機能解析

谷口 浩二*

要旨 IL-6 シグナルのエフェクターとして JAK-STAT3 経路が有名であるが、最近、著者は新たなエフェクターとして Src-YAP 経路を発見し、腸の再生に重要であることを報告した。今回の研究では、消化器がんと消化器再生における炎症、Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路の活性化機構と役割を明らかにする事を目的とした。まず腸オルガノイドにおいてがん抑制遺伝子 APC の欠損により Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路が活性化される事を発見した。さらに Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路を阻害剤で同時に抑制する事で単剤投与に比べて大腸がん、膵臓がん、食道がん細胞の増殖をより効果的に抑制できる事が明らかとなった。Src 阻害剤と JAK 阻害剤はすでに一部が治療薬として他の疾患に承認されたり、治験が行われたりしている。そのため、今回の研究結果はヒトへの臨床応用も早期に行うことが可能と期待される。

はじめに

大腸がん、膵臓がんなどの消化器がんによる死亡率は依然として高く、早期であれば内科的治療や外科的切除が可能であるが、進行がんやがんの再発の場合は主に化学療法が行われ、その効果は限定的である。免疫療法として免疫チェックポイント阻害剤（抗 PD-1/PD-L1 抗体療法）が注目されているが、メラノーマなどでは良好な結果が出ている一方、多くの大腸がんではあまり効果がない事が報告されている。慢性炎症が多くのがんの発生や進展（転移）に寄与している事がよく知られており、その中でも炎症性サイトカイン IL-6 が大きな役割を果たしている事が知られている¹⁾²⁾。

IL-6 シグナルのエフェクターとして JAK-STAT3 経路が有名であるが、最近、著者は Src-YAP 経路を発見し、腸の再生に重要である事を報告した³⁾。著者は、炎症性腸疾患や大腸がんでは活性化している IL-6-gp130 シグナルを腸上皮細胞特異的に活性化させるため、gp130 の恒常的活性化型変異（炎症性肝腫瘍の患者から発見された変異）を用いて、腸上皮細胞特異的な gp130 トランスジェニックマウス（Villin-gp130 Tg マウス）を作製した。Villin-gp130 Tg マウスの表現型としては、腸が長く太くなり、増殖している未熟な腸上皮細胞の増加と分泌細胞（パネート細胞、杯細胞）の減少を認め、腸炎モデルで腸炎抵抗性を示した。その表現型を引き起こすメカニズムとして、gp130 の下流で JAK-STAT3 シグナルに加え、Src-YAP-Notch というシグナルが活性化している事を発見した。腸炎抵抗性においても、gp130 の下流で JAK-STAT3 シグナルに加え、Src-YAP-Notch シグナルが重要な働きを果たしている事を明らかにし、Src-YAP シグナルが炎症性腸疾患の一種であるクローン病患者の腸でも活性化している事を確認した。著者が発見した IL-6-gp130-Src-YAP 経路は、「炎症」と「再生」をつなぐ新規シグナル伝達経路であると考えられる。

再生を促進するシグナルの多くはがんにおいても活性化している事が知られており、このシグナルががんにおいても活性化していれば、がんの新しい治療標的になる可能性がある。本研究では、消化器がんや消化器再生における炎症および Src-YAP 経路の役割を明らかにし、新規のがん治療標的・治療法を発見して、新しい集学的治療を提唱する事を目的として研究を行った。

*慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学

方 法

本研究では、消化器がん（大腸がん、膵臓がん、食道がんなど）や消化器の再生における炎症および著者が発見した Src-YAP 経路（炎症により活性化される新規経路）の役割を明らかにし、新規の治療標的・治療法を提唱する事を目的とし、研究計画、1. 消化器がんにおける Src-YAP 経路の活性化メカニズム・役割の解明、2. 消化器再生における Src-YAP 経路の役割の解明、を作成した。研究方法としては主に細胞（腸オルガノイド、がん細胞株など）やマウスを用いて実験を行った。

1. 消化器がんにおける Src-YAP 経路の活性化メカニズム・役割の解明

マウス腸オルガノイドやヒト食道がん細胞株（TE-1, TE-5, TE-8, TE-11）、ヒト膵臓がん細胞株（Panc-1 と MiaPaCa-2）を用いて、Src-YAP 経路や JAK-STAT3 経路が活性化しているかをウエスタンブロット法にて検討した。また食道がん細胞株や膵臓がん細胞株の増殖に対する Src 阻害剤と JAK 阻害剤の効果を MTT assay で検討した。具体的には、上記細胞株を 96 well プレートへ播種し、生細胞数測定試薬 SF（ナカライ）を使用し、細胞の増殖速度を比較検討した。Src 阻害剤として AZD0530 (Selleck) と Dasatinib (LC laboratories), JAK 阻害剤として AZD1480 (Selleck) を使用した。

2. 消化器再生における Src-YAP 経路の役割の解明

セルレイン誘発急性性肺炎モデルを用いて、Src-YAP 経路の活性化（セルレイン投与後 0, 1, 3, 6, 12, 24, 72, 68 時間のタイムコース）を検討した。8 週齢の C57BL/6 マウス（メス）にセルレイン (Sigma) 50ug/kg を 1 時間ごとに 7 回腹腔内注射で投与し、急性肺炎を誘導した。回収したサンプルを用い、ウエスタンブロット法と免疫組織化学染色法にて、Src-YAP 経路や JAK-STAT3 経路の活性化を検討した。

結 果

1. 消化器がんにおける Src-YAP 経路の活性化メカニズム・役割の解明

腸オルガノイドにおいて、Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路の同時活性化ががん抑制遺伝子 APC (adenomatous polyposis coli) の欠損により起こる事がわかった⁴⁾。さらにヒト食道がん細胞株や膵臓がん細胞株において、Src と STAT3 の活性化と YAP の発現を認めた（図 1, 図 2, 図 3）。Panc-1 における YAP の発現は Src に依存的であった（図 3）。また膵臓がん細胞株で Src と STAT3 の活性化を Src 阻害剤（AZD0530 および Dasatinib）と JAK 阻害剤（AZD1480）でそれぞれ抑制すると細胞増殖が抑制された（図 4）。さらにその抑制効果は Src 阻害剤と JAK 阻害剤の併用により増強した（図 4）。また食道がん細胞株における阻害剤実験においても同様の結果が得られた（図 5）。

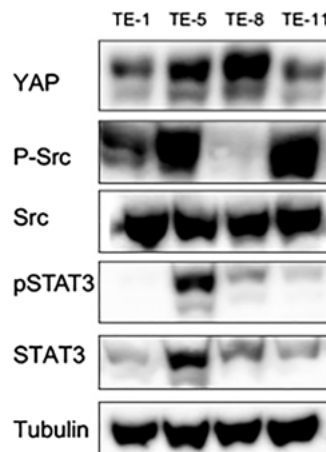


図 1 食道がん細胞株における STAT3, Src の活性化と YAP の発現

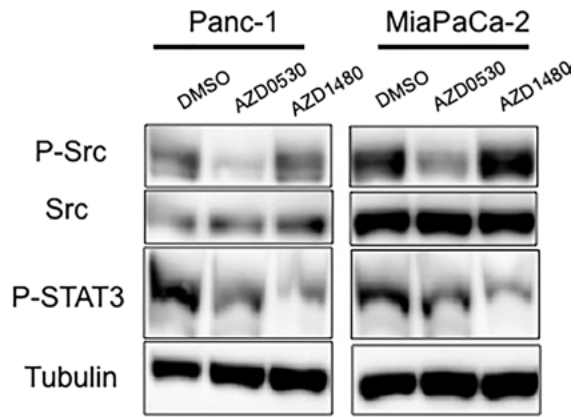


図2 膵臓がん細胞株における STAT3, Src の活性化

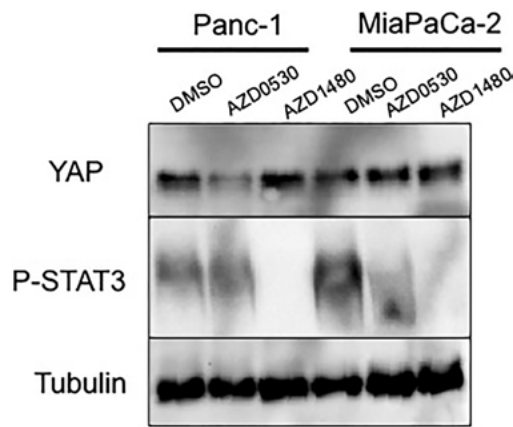


図3 膵臓がん細胞株における YAP の発現

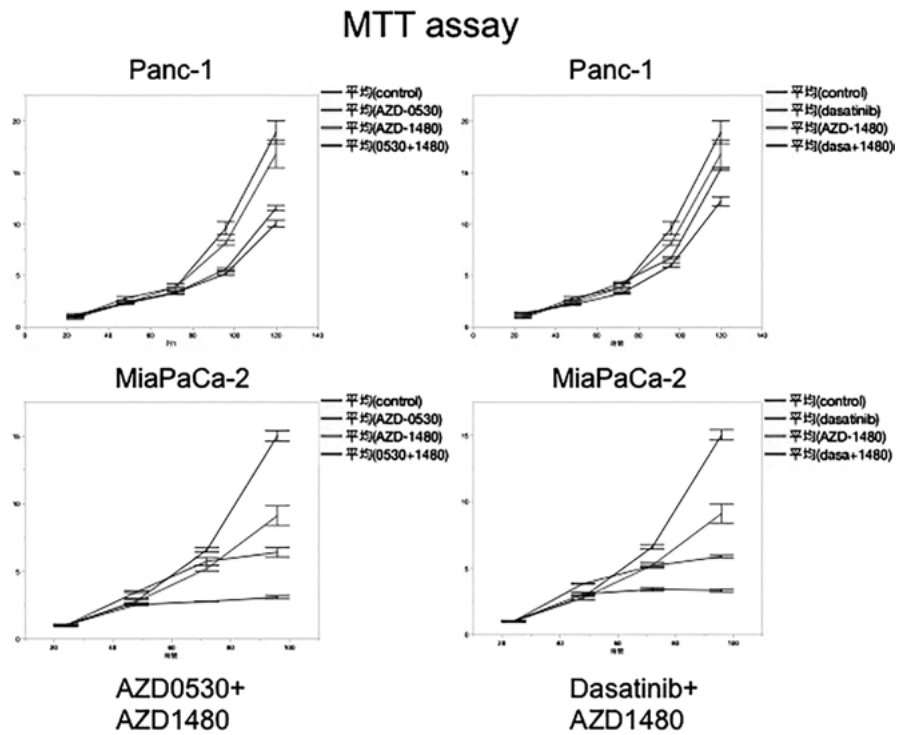


図4 膵臓がん細胞株における阻害剤の増殖抑制効果

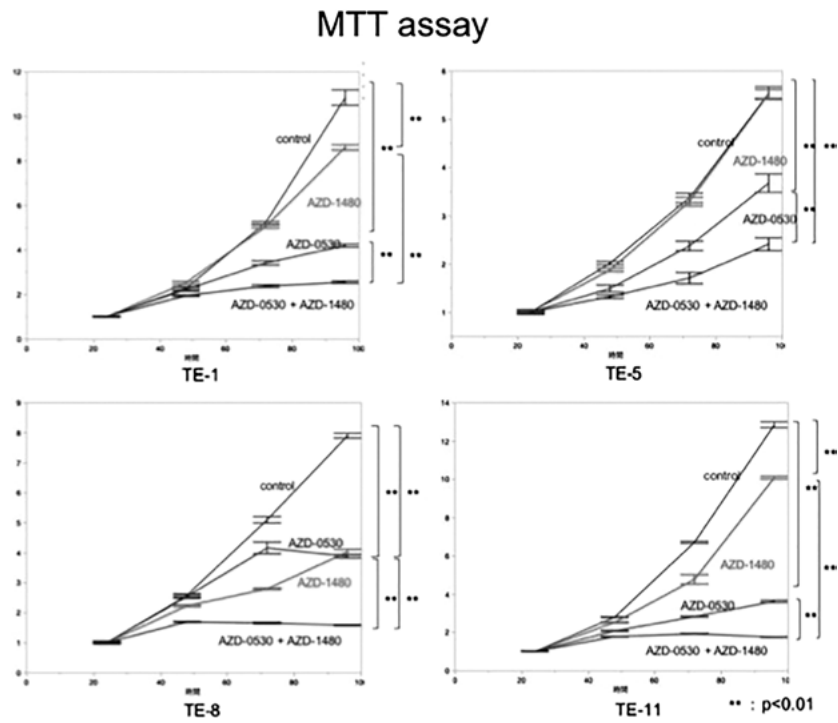


図5 食道がん細胞株における阻害剤の増殖抑制効果

2. 消化器再生における Src-YAP 経路の役割の解明

セルレイン投与により誘導された膵炎の膵臓サンプルにおいて、投与後早期からの STAT3 や Src の活性化と後期からの YAP の発現上昇をウエスタンブロット法で確認した (図6)。またセルレイン投与後の YAP の発現上昇・活性化を免疫組織化学染色法で確認した (図7)。

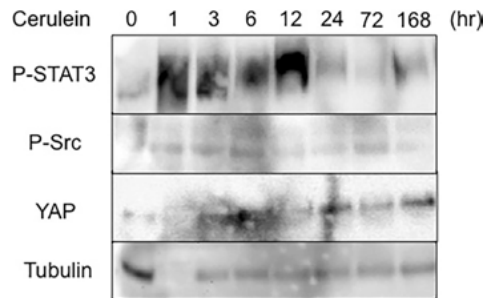


図6 セルレイン投与による膵臓での STAT3, Src の活性化と YAP の発現誘導

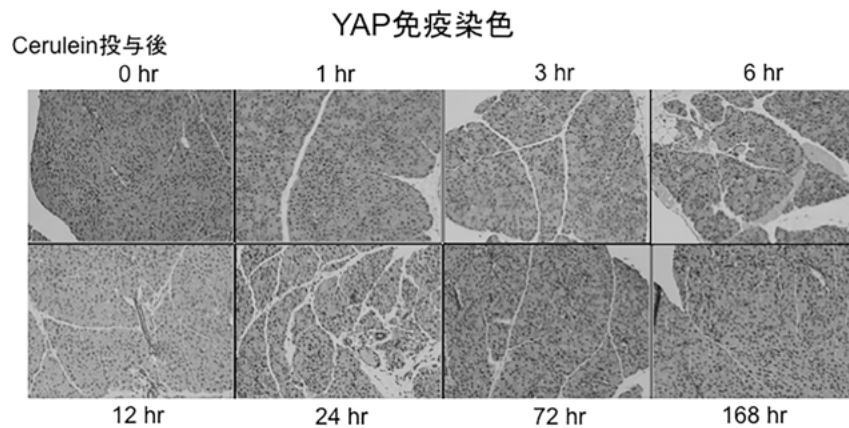


図7 セルレイン投与による膵臓での YAP の発現誘導

考 察

IL-6 シグナルのエフェクターとして JAK-STAT3 経路が有名であるが、最近、著者は新たなエフェクターとして Src-YAP 経路を発見し、腸の再生に重要であることを報告した³⁾。しかし、これらのシグナル伝達経路のがんでの役割や他臓器の再生での役割は検討されていなかった。

そこで今回の研究では、消化器がんと消化器再生における炎症、Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路の活性化機構と役割を明らかにする事を目的とし研究を行った。まず腸オルガノイドにおいてがん抑制遺伝子 APC の欠損により Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路が活性化される事を発見した。さらにヒト膵臓がん細胞株や食道がん細胞株においても両経路は活性化していた。Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路は独立したシグナル経路であり、定常状態ではほとんど活性化されておらず、がんや組織再生時に強く活性化が誘導される事がこれまでの研究から分かっている³⁾⁴⁾。そのため、がんにおけるよい治療標的と考え、Src 阻害剤と JAK 阻害剤の同時投与が単独投与よりもがん治療に有効ではないかとの仮説を立てた。実際、膵臓がん細胞株や食道がん細胞株の実験で Src 阻害剤と JAK 阻害剤の同時投与は単独投与に比べてより効果的に腫瘍を抑制することを確認した。

また急性膵炎・膵再生のマウスモデルであるセルレイン誘発膵炎モデルにおいても、セルレイン投与による Src-YAP 経路や JAK-STAT3 経路の活性化を認め、これらのシグナル伝達経路が腸の再生のみならず膵臓の再生に寄与している可能性が示唆された。

以上の結果より、Src-YAP 経路は様々な種類の消化器がんや再生に重要な役割を果たしており、消化器がんの新しい治療標的となる可能性が示唆された。

おわりに

Src 阻害剤と JAK 阻害剤はすでに一部が治療薬として他の疾患に承認されたり、治験が行われたりしている。そのため、今回の実験結果はヒトへの臨床応用も早期に行うことが可能と考えられる。Src-YAP 経路と JAK-STAT3 経路は化学療法抵抗性にも関与していることが知られており、通常の化学療法に加えて、Src 阻害剤と JAK 阻害剤を同時に投与する治療法ががんの治療により有効な可能性がある。

本研究を支援して下さった公益財団法人がん集学的治療研究財団の関係者の皆様に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) Taniguchi K, Karin M: IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. *Semin Immunol* ; **26**(1):54-74, 2014.
- 2) Taniguchi K, Karin M: NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol* ; **18**(5):309-24, 2018.
- 3) Taniguchi K, Wu LW, Grivennikov SI, et al: A gp130-Src-YAP module links inflammation to epithelial regeneration. *Nature* **5**; **519**(7541):57-62, 2015.
- 4) Taniguchi K, Moroishi T, de Jong PR, et al: YAP-IL-6ST autoregulatory loop activated on APC loss controls colonic tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **14**; **114**(7):1643-8, 2017.

腫瘍由来血中遊離 DNA を用いたりキッドバイオプシーの結果に基づく切除不能・切除境界膵癌に対する集学的治療の個別化への試み

畠 達夫*

要旨 切除が企図された膵癌に対して治療方針を決定する際、遺残のない切除が可能か？という視点から切除可能性分類がなされる。本研究では、切除を企図した膵癌の血中遊離 DNA (cell-free DNA, cfDNA) の *KRAS* 遺伝子変異をデジタル PCR を用いて測定し、画像上では切除可能と診断された症例であっても、腹腔洗浄細胞診陽性例や腫瘍マーカー高値例など、微小転移の存在や不顕性の転移が疑われる症例に *KRAS* 変異陽性例が多い傾向があることを見出した。血中 cfDNA の *KRAS* 変異測定は画像診断では検出不能な微小転移の診断または不顕性の転移出現の予測に有用な可能性が示唆されたが、少数例の検討であり、今後は再発・予後などの臨床アウトカムとの関連について検討を加えるべく、症例の集積および解析を継続していく予定である。

はじめに

膵癌取扱い規約第7版より、従来のステージ分類に加えて切除可能性分類が新たに追加された。切除可能性分類とは従来 TNM 因子に基づいた病期分類とは異なり、主に主要動脈との接触の程度を評価することで、遺残のない切除が可能か？という視点で分類されるものであり、主に切除を企図した症例に対して意義を有するものである。しかしながら、切除可能・切除境界・切除不能とそれぞれ分類された病変に対してどのような治療戦略が最適なのかは未だ明らかでない。

切除不能・再発膵癌に対する新規レジメンである Gemcitabine+nab-paclitaxel 療法および FOLFIRIN-IOX 療法の有効性を支持する結果が国内でも蓄積され¹⁾²⁾、特に近年はこれらのレジメンを切除を企図した膵癌に対して術前治療として行う治療戦略が注目されている。現在、当教室を含めた複数の国内のハイボリュームセンターでその有用性を検証する様々な臨床試験が計画・遂行中であるが、切除可能性分類に応じた術前治療の適否、治療レジメン、治療法（化学療法か化学放射線療法か）などの点において未だ一定の基準はなく、施設毎に異なる治療が施されているのが現状である。

本研究の目的は、当科における切除企図膵癌に対する集学的治療にバイオマーカー研究を付随させ、特に画像診断では検出困難な微小転移診断における血液バイオマーカーの有用性を明らかにすることである。膵癌診療においては最も高頻度にみられる遺伝子異常である *KRAS* 変異アレルをゲノムマーカーとして用いた検討が多いが³⁾⁴⁾、主に診断・予後予測マーカーとしての有用性について検討したものであり、切除企図膵癌における集学的治療への有用性については明らかでない。バイオマーカーの結果に基づき、微小転移診断、および微小転移の存在が強く疑われる症例に対して術前治療先行させるという集学的治療の層別化・精密化が可能になれば、これまで難治とされてきた膵癌の予後向上へのブレイクスルーとなることが期待される。

対 象

2017年11月から2018年4月までの間に東北大学病院総合外科（旧肝胆膵外科）で精査または治療を行っ

* 東北大学大学院医学系研究科 消化器外科学分野

た膵癌54例を対象とした。54例全例において治療前に組織学的に膵腺癌と診断されている。

現在、「血液試料を用いた膵疾患の診断・治療に関するバイオマーカーを調査する研究」として東北大学大学院医学系研究科倫理委員会より承認を受け、当教室で切除を企図して精査・治療が開始された膵癌を対象に前向きに血液試料を採取している（承認番号2018-1-248）。本研究の対象となった54例全例に対しても個別に説明と同意取得を行った。

方 法

末梢血より全血を採取後、可及的速やかに遠心分離し、血漿成分を分注し、 -80°C で凍結保存した。使用に際しては、血漿を解凍後に14,000g、 4°C で10分間遠心し、上清2.0mLからcirculating cell free DNA extraction kit (QIAGEN)を用いてcfDNAの抽出を行った。cfDNAは低濃度でかつ高度に断片化されていることから、濃度測定はLINE-1配列を標的としたPCR法にて行い、標準試料であるhuman genomic DNA (G3041, Progema)を用いて検量線を作製した。

得られたDNAをテンプレートにKRASマルチスクリーニングキット (Bio-rad)を用いてKRAS遺伝子のcodon12/13の点突然変異を有するアレル頻度をデジタルPCR (QX200, Bio-rad)を用いて定量した。QuantaSoft 1.7.4 (Bio-rad)を用いて陽性の液滴数をカウントし、ポアソン分布に基づく補正後、野生型、変異型のアレル頻度をそれぞれ測定した。

対象症例より得られた患者背景、画像診断、腫瘍マーカー、審査腹腔鏡検査などの臨床情報を診療記録から抽出し、KRAS変異アレル頻度との関連性につき比較検討した。臨床病期は膵癌取り扱い規約7版に基づき分類し、切除可能性分類も規約に基づき、切除可能 (R)、切除境界 (BR)、切除不能 (UR)に分類した。さらに規約に基づき、BR膵癌は門脈 (BR-PV)、動脈への浸潤 (BR-A)、UR膵癌は局所進行 (UR-LA)、遠隔転移あり (UR-M)にそれぞれ細分類した。

結 果

54例の患者背景は男性32例、女性22例で、治療前の画像検査に基づくにおける臨床病期はそれぞれStage I/II/III/IV：8/28/10/8例であった。同様に、切除可能性分類についてはRが29例、BRが10例、URが8例であった (表1)。

表1 患者背景

Variables		n	(%)
Sex	Male	32	(59.3)
	Female	22	(40.7)
Location	Head	31	(57.4)
	Body and tail	23	(42.6)
cStage (JPS 7th)	I	8	(14.8)
	II	28	(51.9)
	III	10	(18.5)
	IV	8	(14.8)
Resectability (JPS 7th)	R	29	(53.7)
	BR-PV	3	(5.6)
	BR-A	7	(13.0)
	UR-LA	7	(13.0)
	UR-M	8	(14.8)
Treatment	Upfront surgery	15	(27.8)
	Chemotherapy→surgery	21	(38.9)
	Chemotherapy	17	(31.5)
	Chemoradiotherapy→surgery	1	(1.9)

対象症例より得られた cfDNA の総量をステージ別, 切除可能性分類別に比較検討すると, Stage I 症例における血漿 1 mL あたりの cfDNA 量は中央値で 5.70ng であり, StageIV の 6.90ng と比べ少ない傾向にあった。また, 切除可能性分類についても同様の傾向であった (図 1)。

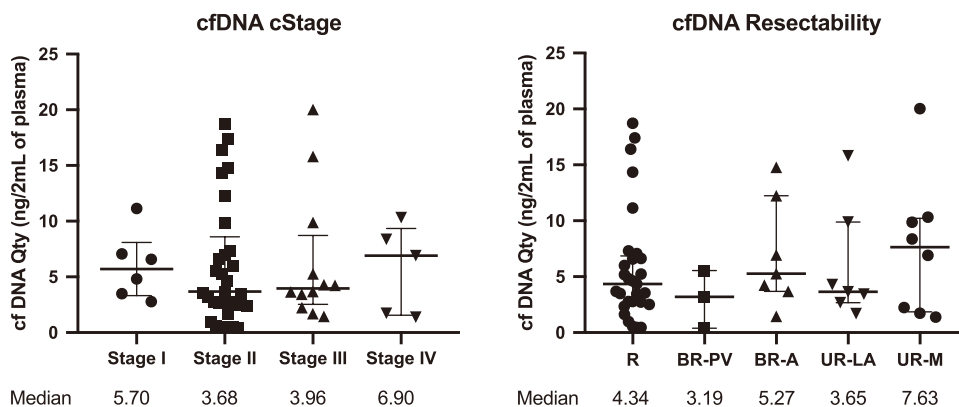


図 1 ステージ別, 切除可能性分類別の血中遊離核酸の総量

次に, デジタル PCR で測定された *KRAS* 遺伝子変異アレル頻度について比較検討した。R 腺癌は 29 例中 4 例で変異アレルが検出され, 陽性率は 14% であった。一方, UR 腺癌は 15 例中 9 例で変異アレルが検出され, 陽性率は 60% とあった。細分類して再検討したところ, UR-LA 症例で 57%, UR-M 症例では 63% であり, 局所進行例と遠隔転移例ではほぼ同程度の陽性率であった (図 2)。UR 腺癌の *KRAS* 変異アレル陽性 9 例のうち, 実際の変異アレル頻度は中央値で 0.3% であった。一方, R 腺癌の *KRAS* 変異アレル陽性 4 例の変異アレル頻度はそれぞれ 2.1%, 1.0%, 0.5%, 0.4% であり, ややばらつきが見られた (図 3)。R 腺癌における *KRAS* 変異陽性例の詳細を表 2 に示す。4 例中 2 例は腹腔洗浄細胞診が陽性 (CY1) であり, 1 例は血液中の腫瘍マーカーである DUPAN-2 が 16,000IU/mL と異常高値を示していた (表 2)。

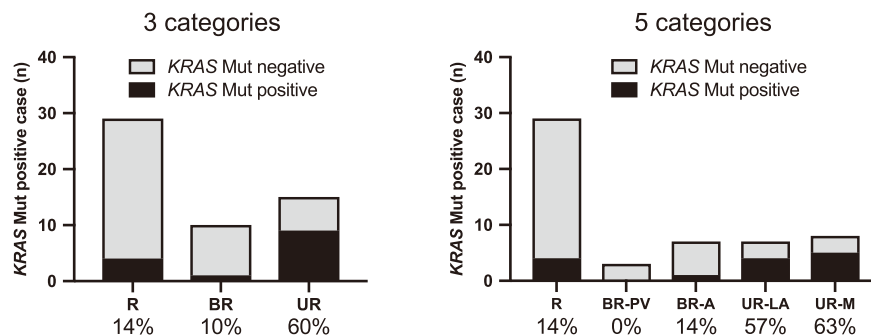


図 2 切除可能性分類と血中 cfDNA 中の *KRAS* 変異陽性頻度

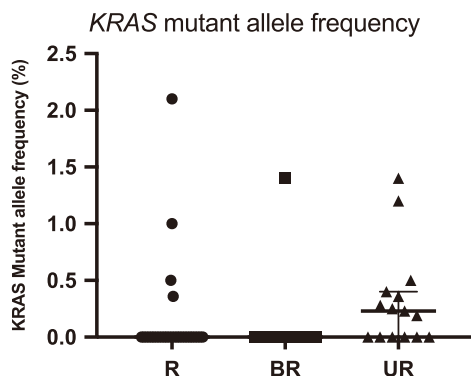


図 3 切除可能性分類と血中 cfDNA 中の *KRAS* 変異アレル頻度

表2 血中 cfDNA の *KRAS* 変異陽性を示した切除可能膵癌 4 例の詳細

No.	Age	CEA (ng/mL)	CA19-9 (IU/mL)	DUPAN-2 (IU/mL)	Location	cT	Size (mm)	cN	cM	CY	Stage (JPS7 th)	cfDNA Qty (ng/2mL plasma)	<i>KRAS</i> MAF (%)
1	44/M	7.0	113.5	16000	Ph	3	31	0	0	Class II	IIA	10.47	1.0
2	66/F	2.6	28.6	41	Pb	1 c	15	0	0	Class V	IA	22.29	0.5
31	65/F	3.5	254.5	197	Pb	3	25	0	0	Class V	IIA	5.04	2.1
61	82/F	3.6	50.8	37	Ph	1 b	7	0	0	Class II	IA	7.07	0.4

Ph, pancreatic head; Pb, pancreatic body; CY peritoneal lavage cytology; MAF, mutant allele frequency

考 察

切除を企図した膵癌に対する微小転移の診断は集学的治療の適応と方針決定に直結するため、高い精度が求められる。本研究の結果では、血中 cfDNA の *KRAS* 変異陽性率は進行例かつ切除不能例で陽性率が高く、臨床病期や切除可能性分類との関連が示唆された。これらの結果から、既報と同様に血中 cfDNA の *KRAS* 変異は全身性の転移を診断するバイオマーカーとなりうる可能性が示唆されたが、一方では R 膵癌を高精度に診断することは困難であった。しかしながら、R 膵癌であっても血中 cfDNA の *KRAS* 変異陽性例が存在し、それらの症例は CY1 例や腫瘍マーカー異常高値例を示しており、腹腔内または全身に微小転移の存在が疑われる症例であった。腹膜転移が成立する前段階と解釈されている CY1 所見と全身性の血行性転移のバイオマーカーとなりうる cfDNA 中の *KRAS* 変異に関連性が示唆されたことは興味深く、今後はより多数例での検討が必要である。

おわりに

切除可能膵癌における血中 cfDNA の *KRAS* 変異陽性例は転移・再発のハイリスク群として層別化できる可能性が示唆された。しかしながら、少数例の検討であり、cfDNA 中の *KRAS* 遺伝子変異測定の意味を明らかにするためには、対象症例の再発・予後に関する臨床アウトカムを用いた検討が必要と考え、今後も症例の集積および解析を継続していく予定である。

最後に、この場をお借りして、研究助成を頂いたがん集学的治療研究財団の関係各位に厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Ueno H, Ikeda M, Ueno M, et al: Phase I/II study of nab-paclitaxel plus gemcitabine for chemotherapy-naïve Japanese patients with metastatic pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* **77**: 595-603, 2016.
- 2) Okusaka T, Ikeda M, Fukutomi A, et al: Phase II study of FOLFIRINOX for chemotherapy-naïve Japanese patients with metastatic pancreatic cancer. *Cancer Sci* **105**: 1321-6, 2014.
- 3) Takai E, Totoki Y, Nakamura H, et al: Clinical utility of circulating tumor DNA for molecular assessment in pancreatic cancer. *Sci Rep* **5**: 18425, 2015.
- 4) Ako S, Nouse K, Kinugasa H, et al: Utility of serum DNA as a marker for *KRAS* mutations in pancreatic cancer tissue. *Pancreatol* **17**: 285-90, 2017.

活性酸素安定効果を有する 抗リウマチ薬サラゾスルファピリジンを併用した、 食道癌に対する新規放射線治療の開発

増田 隆明*

要旨 難治性癌である食道扁平上皮癌に対する治療法として、化学放射線療法が機能温存かつ低侵襲な治療として手術と並び確立している。さらなる治療成績の向上には放射線抵抗性の改善が喫緊の課題である。放射線抵抗性の主な原因として、放射線により誘導された殺細胞効果を持つ活性酸素（以下 ROS）に対するがん幹細胞の中和作用が考えられている。今回我々は、抗リウマチ薬として臨床的に使用されているサラゾスルファピリジンの、ROS の中和を阻害する作用に着目し、サラゾスルファピリジンと放射線照射の併用による食道扁平上皮癌細胞の抗腫瘍効果について検討したところ抗腫瘍効果の増強を認めた。本研究によりサラゾスルファピリジンが、がん幹細胞を標的とした放射線照射の増感剤として機能する可能性が示唆された。現在、マウスを用いた検証実験ならびに増強効果のメカニズムの解明を行っている。

はじめに

難治性癌である食道扁平上皮癌に対する治療法として、化学放射線療法が機能温存かつ低侵襲な治療として手術と並び確立している¹⁾。切除可能食道癌に対する化学放射線療法は5年生存率37%（第Ⅱ相試験 JCOG9906）と満足すべき値ではない。さらなる治療成績の向上には放射線抵抗性の改善が喫緊の課題であり新規放射線増感剤の開発とその増感効果を予測するバイオマーカーの同定が切望されている。

放射線抵抗性の主な原因として、放射線により誘導された殺細胞効果を持つ ROS ががん幹細胞により中和される機序が考えられている²⁾³⁾。がん幹細胞では CD44 のバリエント（CD44v）が高発現している。CD44v はいくつのバリエントが報告されている⁴⁾（図1）。そのバリエントの中で、エキソン12-14を含む CD44v は腫瘍細胞膜表面のシスチントランスポーター（以下 xCT）を安定化させることで細胞外シスチンの取り込みを増加させ、抗酸化物質であるグルタチオンの生成を促進することにより ROS を中和し、細胞内 ROS を低く保っているが、特にこの ROS 中和システムによりがん幹細胞は ROS による殺細胞効果に高い抵抗性を示すと考えられている⁵⁾（図2）。

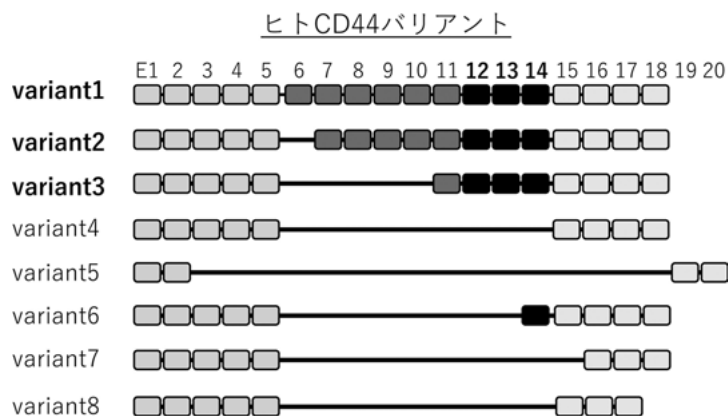


図1 ヒト CD44 バリエント（CD44v） E：エキソン

*九州大学病院別府病院 外科

がん幹細胞のROS回避機構

1. CD44v発現上昇
2. CD44v (エキソン12-14)がxCTに結合し、xCTを安定化
1. シスチンの細胞内取り込み増大
2. グルタチオン濃度上昇
3. ROSを中和
4. 放射線照射による細胞障害低下

サラゾスルファピリジン



xCTの機能の抑制による
ROS上昇、細胞障害

➡ がん幹細胞を標的

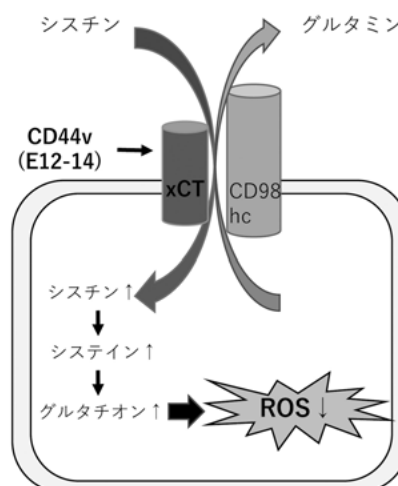


図2 がん幹細胞のROS回避機構とサラゾスルファピリジン

近年、抗リウマチ薬として使用される免疫調整薬サラゾスルファピリジンが、ROSの中和抑制により抗腫瘍効果を示すことが報告された²⁾⁶⁾。サラゾスルファピリジンはxCTの機能を抑制することでROSの中和システムを阻害する²⁾⁶⁾。上記のサラゾスルファピリジンの抗腫瘍効果が注目され、ドラッグリポジショニング薬として臨床応用すべく、本邦において施行された胃癌に対するサラゾスルファピリジン単剤投与の第一相試験では、CD44v陽性細胞の減少が確認され⁷⁾、非小細胞肺癌に対するシスプラチン、ペメトレキセドとのサラゾスルファピリジン併用療法の第一相試験では無増悪生存率の延長傾向を認め⁸⁾。以上から、放射線照射とがん幹細胞を標的としたサラゾスルファピリジンを併用することによる抗腫瘍効果の増強が期待される。

本研究は食道癌におけるサラゾスルファピリジンを併用した新規放射線治療の開発を目的とする。

対象と方法

1. ヒト食道扁平上皮がん細胞株の、エキソン12-14を含むCD44v (以下CD44v1-3) 発現とサラゾスルファピリジン/放射線照射に対する感受性との関連
 - 1) CD44v1-3高発現および低発現ヒト食道扁平上皮がん細胞株の同定 (FACS, RT-qPCR)
 - 2) サラゾスルファピリジン単剤投与によるCD44v1-3高発現および低発現細胞株の抗腫瘍効果 (MTT assay, FACS)
 - 3) サラゾスルファピリジン/放射線照射併用によるCD44v1-3高発現および低発現細胞株の抗腫瘍効果 (colony assay)
2. CRISPR Cas9システムによるCD44v12-14ノックアウト (以下CD44vKO) ヒト食道扁平上皮がん細胞株の樹立と、放射線照射に対する感受性変化
 - 1) CD44vKO細胞株 (エキソン13の切離) の樹立 (CRISPR Cas9システム)
 - 2) CD44vKO細胞株の増殖能 (MTT assay, colony assay)
 - 3) CD44vKO細胞株の放射線照射による抗腫瘍効果 (colony assay)
3. RNAシーケンスを用いたCD44vKO細胞株の網羅的遺伝子発現解析 Pathway解析 (RNAシーケンス)
4. 放射線治療後の食道がん組織中のCD44v発現

化学放射線治療後の食道がん組織中のCD44v発現と局所再発との関連 (RNAシーケンス)

結 果

1. ヒト食道扁平上皮がん細胞株の CD44v1-3 発現とサラゾスルファピリジン／放射線照射に対する感受性との関連

- 1) CD44v1-3 高発現株として TE1, TE11, 低発現株として TE4 を同定した (RT-qPCR, FACS)。
- 2) サラゾスルファピリジン単剤投与により, 高発現株 (TE1, TE11) は低発現株 (TE4) に比較して生存細胞数が減少した (MTT assay, day 3, $p < 0.05$)。この生存抑制効果は, Live-or Dye を用いた FACS 解析によりサラゾスルファピリジン投与により死細胞数の増加を認めなかったことから殺細胞効果ではなく増殖抑制効果であることが示唆された。
- 3) サラゾスルファピリジン 400uM と放射線照射の併用により TE1 (CD44v1-3 高発現株), TE4 (低発現株) いずれも併用による細胞生存抑制効果の増強を認めた (colony assay, Day14, 図 3)。この 2つの細胞に対する増強効果は, サラゾスルファピリジンと放射線照射それぞれの抑制効果の代数和以上であることから, 併用による相乗効果が示唆された。

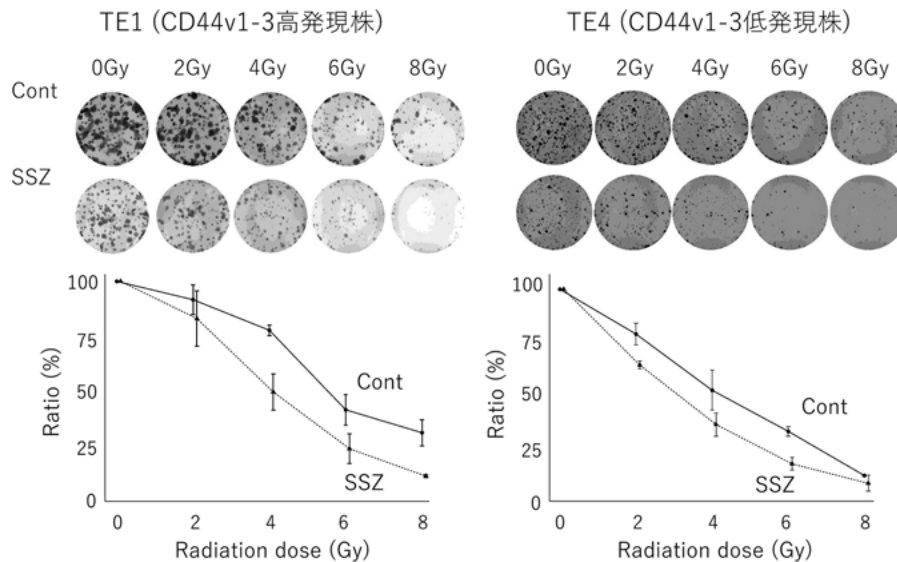


図 3 サラゾスルファピリジンと放射線照射の併用による食道がん細胞に対する抗腫瘍効果
SSZ: サラゾスルファピリジン Cont: control

2. CRISPR Cas9 システムによる CD44v-KO ヒト食道扁平上皮がん細胞株の樹立と, 放射線照射に対する感受性変化

- 1) CRISPR Cas9 システムによる CD44v-KO-TE1 およびそのコントロールを樹立した (図 4)。
- 2) CD44v-KO-TE1 株はコントロールに比較し, 細胞増殖能の低下を認めた (MTT assay: day 3, colony assay: day14. $p < 0.05$)。
- 3) 放射線照射により CD44v-KO 株はコントロールに比較し, 生存細胞数の低下を認めた (colony assay: day14. 図 4)。

3. RNA シークエンスを用いた CD44v-KO 細胞株の網羅的遺伝子発現解析

CD44v-KO-TE1 株では PI3K-Akt signaling pathway や Ras signaling pathway などとの関連を認めた (図 5)。

4. 放射線治療後の食道がん組織中の CD44v 発現

化学放射線治療 (化学療法: CDDP/5FU) に抵抗性を示した症例は CD44v1 と CD44v2 の発現が高値であった (図 6)。

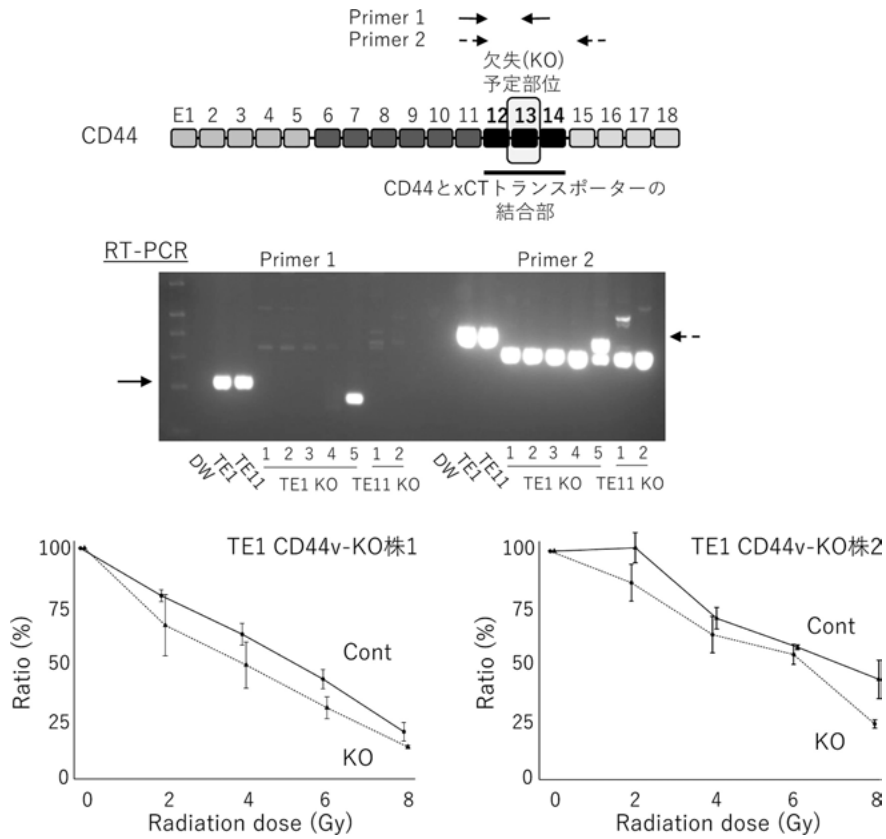


図4 CD44v-KO 食道がん細胞に対する放射線照射の抗腫瘍効果

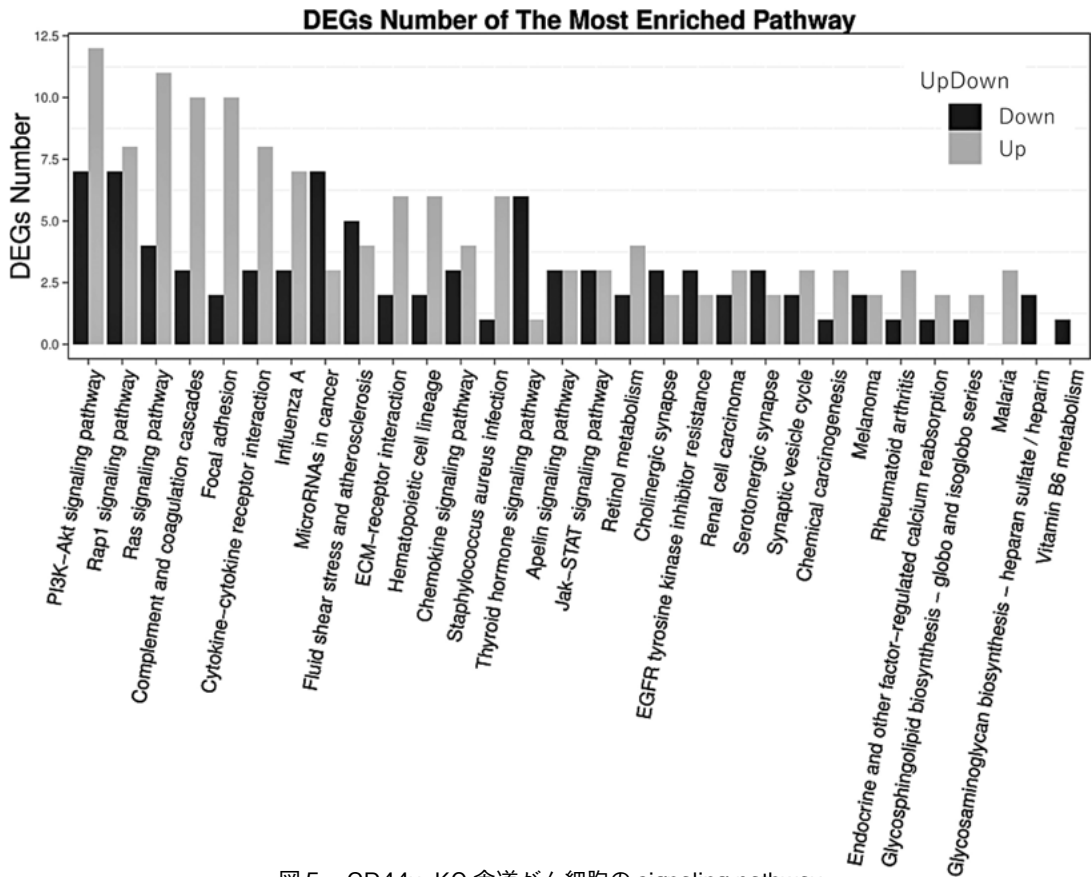


図5 CD44v-KO 食道がん細胞の signaling pathway

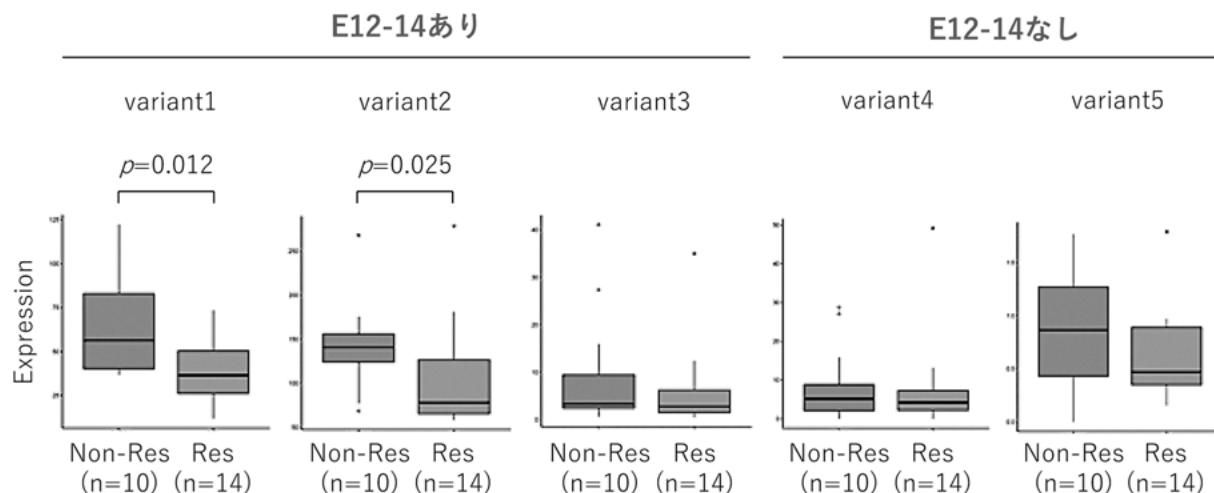


図6 化学放射線治療後の食道がん組織中のCD44v発現

考 按

本研究により、抗リウマチ薬として臨床的に安全に使用されているサラゾスルファピリジンと放射線照射を併用することにより、食道がん細胞に対する抗腫瘍効果の増強を示すことが示唆された。さらに、CRISPR-Cas9システムによるCD44vノックアウト細胞を用いた実験では、これまでに報告されている、サラゾスルファピリジンのxCT抑制によるROSの中和阻害からもたらされる殺細胞効果の増強を支持する結果となった。これらの結果により、放射線照射に高い抵抗性を示すがん幹細胞を標的とする治療戦略の有効性が期待された。さらにこのがん幹細胞を標的とした治療は、食道がんのみならず多くの悪性腫瘍に有効性を示すことが予想される。また、5FUなど抗がん剤による放射線照射の増強効果が報告されているが併用による毒性増強が問題である一方⁹⁾、サラゾスルファピリジンは副作用が少なくかつ市販薬で安価であることからドラッグリポジショニング薬として有望と考える。しかし、今回の*in vitro*の実験では、サラゾスルファピリジン併用による放射線照射の抗腫瘍効果はそれほど高くなかったことから、さらなる有効性の高い化合物の同定を進めていく必要がある。

今後は、主として以下の3つの検討を行う予定である。1. 食道癌担癌マウスを用いた*in vivo*での相乗効果を確認する。2. サラゾスルファピリジンがxCTの抑制を介してROSの中和を阻害することを確認する。3. サラゾスルファピリジンより強力にROSの中和を阻害する化合物を同定する。前臨床試験としての位置づけで食道がん放射線治療におけるサラゾスルファピリジン併用の有効性に関するエビデンスを蓄積していきたい。

おわりに

共同研究者の九州大学病院別府病院放射線科の脇山浩明先生、並びに本研究のご支援賜りました公益財団法人がん集学的治療研究財団の関係各位に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Tachimori Y, Ozawa S, Numasaki H, et al: Comprehensive Registry of Esophageal Cancer in Japan, 2009. *Esophagus* **13**: 110-37, 2016.
- 2) Ishimoto T, Nagano O, Yae T, et al: CD44 variant regulates redox status in cancer cells by stabilizing the xCT subunit of system xc(-) and thereby promotes tumor growth. *Cancer Cell* **19**: 387-400, 2011.

- 3) Diehn M, Cho RW, Clarke MF: Therapeutic implications of the cancer stem cell hypothesis. *Semin Radiat Oncol* **19**: 78–86, 2009.
- 4) Chen C, Zhao S, KaRNAd A, et al: The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J Hematol Oncol* **11**: 64, 2018.
- 5) Diehn M, Cho RW, Lobo NA, et al: Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *Nature* **458**: 780–3, 2009.
- 6) Sleire L, Skeie BS, Netland IA, et al: Drug repurposing: sulfasalazine sensitizes gliomas to gamma knife radiosurgery by blocking cystine uptake through system Xc⁻, leading to glutathione depletion. *Oncogene* **34**: 5951–9, 2015.
- 7) Shitara K, Doi T, Nagano O, et al: Dose-escalation study for the targeting of CD44v⁺ cancer stem cells by sulfasalazine in patients with advanced gastric cancer (EPOC1205). *Gastric cancer* **20**: 341–9, 2017.
- 8) Otsubo K, Nosaki K, Imamura CK, et al: Phase I study of salazosulfapyridine in combination with cisplatin and pemetrexed for advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer Sci* **108**: 1843–9, 2017.
- 9) Rebecca WO, Richard MA: Combined chemotherapy and radiotherapy (without surgery) compared with radiotherapy alone in localized carcinoma of the esophagus. *Cochrane Database Syst Rev*. CD002092, 2003.

研究経過報告書執筆要項

- (1) 下記の基準で論文（日本文）を作成して下さい。

要 旨	400字 × 1枚
本 文	400字 × 10枚
写真・図表	10枚以内（写真はモノクロ）
引用文献	10位

- (2) 原稿はパソコンをご使用の上、専門用語以外は当用漢字、現代かなづかい（平がな）を用い、平易明瞭に句読点は正確にお書き下さい。1枚に40字×40行とし、行間をできるだけあけてプリントアウトして下さい。また、CD-ROM、DVD-ROM等にデータを保存したものを、使用機種、ソフト名を明記の上、一緒にお送り下さい。
- (3) 薬品の商品名（欧文）は大文字、学名、一般名は小文字で記載下さい。
- (4) 数字は算用数字を用い、度量衡単位はCGS単位でm, cm, mm, cm², ml, l, dl, kg, g, mgなどとして下さい。
- (5) 写真は手札型以上の大きさと鮮明であること、文字や矢印を記号する場合はトレーシングペーパーをかけた上に明記して下さい。
- (6) 原稿は原則として返却いたしません。写真、図などで返却を要するものにはその旨明記して下さい。
- (7) 文献は本文中に引用されたもののみをあげて下さい。本文中の引用箇所には肩番号を付して下さい。
- (8) 文献の書き方は次のように統一して下さい。

引用文献、著者名は3人まで記し、それ以上は「他」「et al」として下さい。

外国文献の記載形式はIndex Medicus所載に準じて下さい。

雑誌の場合→引用番号) 著者名：論文題名、雑誌名、巻数、頁数（西暦年号）

単行本の場合→引用番号) 著者名：論文題名、書名（編者名）、版、頁、発行所名、発行地、（西暦年号）

- 例 1) 田口鐵男, 古江 尚, 塚越 茂, 他：胃癌の化学療法. 癌と化学療法 **7** (12) : 109-114, 1980.
- 2) 幕内雅敏, 長谷川博, 山崎 晋：肝細胞癌の早期診断法. ウィルス肝炎から肝細胞癌へ（服部 信編）, 第2版, 309-328, 癌と化学療法社, 東京, 1982.
- 3) Umezawa H, Aoyagi T, Suda H, et al: Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase B, produced by Actinomycetes. *J. Antibiotics* **29**:97-99, 1976.

- (9) 文頭は、「はじめに」ではじまり、「おわりに」で結ぶ。
- (10) 論文は要旨－はじめに－（対象－方法－成績）－考按－おわりに－文献－表－図の説明－図の順に原稿を構成して下さい。図および表には文中に出る順番に番号を付して下さい。
- (11) 項目は次のような記号を用います。
- I. …… 1. …… 1) ……a
- (12) 原稿には表紙を付し、表題、著者名、所属、機関名、原稿枚数、図表点数を明記して下さい。

一般研究助成者一覧(発刊年度)

- 1981 浅野長一郎 (九州大学理学部)
(1卷) 天木 一太 (日本大学医学部)
加藤 哲郎 (秋田大学医学部)
関口 守正 (東京大学医科学研究所)
寺尾 榮夫 (東京都立駒込病院)
野本亀久雄 (九州大学医学部)
母里 知之 (東海大学医学部)
吉田 修 (京都大学医学部)
- 1982 浅野長一郎 (九州大学理学部)
(2卷) 海老名卓三郎 (東北大学医学部)
小山 博記 (大阪府立成人病センター)
友田 豊 (名古屋大学医学部)
新島 端夫 (東京大学医学部)
藤本 孟男 (愛知医科大学)
松澤 大樹 (東北大学抗酸菌病研究所)
三好 勇夫 (高知医科大学)
- 1983 池田 恵一 (九州大学医学部)
(3卷) 木村 郁郎 (岡山大学医学部)
菅原 克彦 (山梨医科大学)
橘 武彦 (東北大学抗酸菌病研究所)
西平 哲郎 (東北大学医学部)
藤原 大美 (大阪大学医学部)
三橋 重信 (久留米大学医学部)
山本三毅夫 (九州大学生体防御医学研究所)
- 1984 大西 克尚 (九州大学医学部)
(4卷) 折田 薫三 (岡山大学医学部)
小磯 謙吉 (筑波大学臨床医学系)
関根 暉彬 (国立がんセンター研究所)
塚田 裕 (北海道大学医学部)
原 泰寛 (国立病院九州がんセンター)
前山 巖 (鳥取大学医学部)
山田 一正 (名古屋大学医学部)
- 1985 犬山 征夫 (慶應義塾大学医学部)
(5卷) 小玉 正智 (滋賀医科大学)
- 東 市郎 (北海道大学免疫科学研究所)
太田 和雄 (愛知県がんセンター)
須賀 昭二 (国立名古屋病院)
高見沢裕吉 (千葉大学医学部)
西 満正 (鹿児島大学医学部)
棟久 龍夫 (長崎大学医学部)
森 武貞 (大阪大学医学部)
涌井 昭 (東北大学抗酸菌病研究所)
井村 裕夫 (京都大学医学部)
古賀 成昌 (鳥取大学医学部)
志田 圭三 (群馬大学医学部)
中西 昌美 (北海道大学医学部)
馬場 恒男 (九州大学生体防御医学研究所)
細川真澄男 (北海道大学医学部)
松田 忠義 (東京都立駒込病院)
- 石引 久弥 (慶應義塾大学医学部)
桑野 信彦 (大分医科大学)
高久 史磨 (東京大学医学部)
螺良 英郎 (徳島大学医学部)
野村 雍夫 (国立病院九州がんセンター)
前田 浩 (熊本大学医学部)
谷内 昭 (札幌医科大学)
- 小野寺時夫 (東京都立駒込病院)
藏本 淳 (広島大学原爆放射能医学研究所)
杉町 圭蔵 (九州大学医学部)
高月 清 (熊本大学医学部)
鶴尾 隆 (癌研・癌化学療法センター)
福西 亮 (愛媛大学医学部)
水落 次男 (東京大学医科学研究所)
- 北村 幸彦 (大阪大学医学部附属癌研究施設)
小林 利次 (産業医科大学)

- 1985 佐々木琢磨 (国立がんセンター)
 (5巻) 田中 正夫 (国立名古屋病院血液病センター)
 中村 徹 (福井医科大学)
 原 耕平 (長崎大学医学部)
 藤田 昌英 (大阪大学微生物病研究所)
 松谷 雅生 (東京都立駒込病院)
 吉田 孝人 (浜松医科大学)
- 1986 内野 治人 (京都大学医学部)
 (6巻) 岡部 哲郎 (東京大学医学部)
 狩野 恭一 (東京大学医科学研究所)
 久保田哲朗 (慶應義塾大学医学部)
 坂井 保信 (東京都立駒込病院)
 曾根 三郎 (徳島大学医学部)
 田中 敬正 (関西医科大学)
 橋本 省三 (慶應義塾大学医学部)
 浜岡 利之 (大阪大学医学部附属腫瘍研究施設)
- 1987 市橋 秀仁 (藤田学園保健衛生大学医学部)
 (7巻) 奥村 康 (順天堂大学医学部)
 勝沼 信彦 (徳島大学酵素科学研究センター)
 金沢 浩二 (新潟大学医学部)
 佐藤 周子 (愛知県がんセンター)
 高本 滋 (東京都立駒込病院)
 中村 仁信 (大阪大学微生物病研究所)
 松本 圭史 (大阪大学医学部)
 山口 豊 (千葉大学医学部肺癌研究施設)
- 1988 秋山 伸一 (鹿児島大学医学部附属腫瘍研究施設)
 (8巻) 阿部 達生 (京都府立医科大学)
 上田 政和 (慶應義塾大学医学部)
 小川 恭弘 (高知医科大学)
 神奈木玲児 (京都大学医学部)
 今 充 (弘前大学医学部)
 笹月 健彦 (九州大学生体防御医学研究所)
 徳永 徹 (国立予防衛生研究所)
 馬場 正三 (浜松医科大学)
- 1989 阿曾 佳郎 (東京大学医学部)
 (9巻) 今井 浩三 (札幌医科大学)
- 仙道富士郎 (山形大学医学部)
 鳥巢 要道 (九州大学医学部)
 新本 稔 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 原田 実根 (金沢大学医学部)
 穂積 本男 (埼玉県立がんセンター研究所)
 御厨 修一 (国立病院医療センター)
- 大野 竜三 (名古屋大学医学部)
 片野 建之 (癌研・癌化学療法センター)
 木村 元喜 (九州大学生体防御医学研究所)
 熊本 悦明 (札幌医科大学)
 珠玖 洋 (長崎大学医学部)
 田中 信男 (東京大学応用微生物研究所)
 西田 輝夫 (近畿大学医学部)
 羽生富士夫 (東京女子医科大学消化器病センター)
 前田 迪郎 (鳥取大学医学部)
 大森 弘之 (岡山大学医学部)
 小黒 昌夫 (千葉県がんセンター)
 加藤 四郎 (大阪大学微生物病研究所)
 坂本 純一 (愛知県がんセンター)
 鈴木 磨郎 (東北大学抗酸菌病研究所)
 峠 哲哉 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 正岡 徹 (大阪府立成人病センター)
 宮崎 保 (北海道大学医学部)
 吉田 奎介 (新潟大学医学部)
 浅野 茂隆 (東京大学医科学研究所)
 今岡 真義 (大阪府立成人病センター)
 江藤 澄哉 (産業医科大学)
 鎌田 七男 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 小山 研二 (秋田大学医学部)
 斎藤 正男 (東京大学医学部)
 谷川 允彦 (福井医科大学)
 富永 健 (東京都立駒込病院)
 平野 正美 (藤田学園保健衛生大学医学部)
 石川 哮 (熊本大学医学部)
 岩永 剛 (大阪府立成人病センター)

- 1989 上田 龍三 (愛知県がんセンター研究所) 太田 康幸 (愛媛大学医学部)
 (9卷) 岡田 秀親 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所) 小川 道雄 (大阪大学医学部)
 掛川 暉夫 (久留米大学医学部) 加藤 知行 (愛知県がんセンター)
 金子 明博 (国立がんセンター病院) 齊藤 博 (埼玉医科大学総合医療センター)
 澤木 修二 (横浜市立大学医学部) 高上 洋一 (徳島大学医学部)
 中村 治 (東京都立駒込病院) 藤本 重義 (高知医科大学)
 町田喜久雄 (埼玉医科大学総合医療センター) 松野 正紀 (東北大学医学部)
- 1990 荒井 保明 (愛知県がんセンター) 宮本 幸男 (群馬大学医学部)
 (10卷) 入野 昭三 (香川医科大学) 遠藤 光夫 (東京医科歯科大学医学部附属病院)
 小倉 剛 (徳島大学医学部) 菅 典道 (京都大学医学部附属病院)
 木谷 照夫 (大阪大学微生物病研究所) 池田 昌弘 (順天堂大学医学部)
 島津 久明 (鹿児島大学医学部) 田中 隆一 (新潟大学脳研究所)
 土橋 一慶 (帝京大学医学部) 中島 泉 (名古屋大学医学部)
 新津洋司郎 (札幌医科大学) 西村 泰治 (九州大学生体防御医学研究所)
 垣生 園子 (東海大学医学部) 原 信之 (国立病院九州がんセンター)
 藤本 孟男 (愛知医科大学) 前原 喜彦 (九州大学医学部)
 水谷 修紀 (国立小児医療研究センター)
- 1991 秋吉 毅 (九州大学生体防御医学研究所) 安藤 俊夫 (愛知県がんセンター研究所)
 (11卷) 小川 秋實 (信州大学医学部) 小熊 信夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 小越 章平 (高知医科大学) 加藤 洋 (癌研・癌研究所)
 木村幸三郎 (東京医科大学) 河野 公俊 (大分医科大学)
 佐治 重豊 (岐阜大学医学部) 鈴木 徹 (山口大学医学部)
 田中 良明 (東京都立駒込病院) 平井 久丸 (東京大学医学部)
 藤永 蕙 (札幌医科大学附属がん研究所) 真崎 規江 (大阪府立成人病センター)
 麦島 秀雄 (日本大学医学部) 山内 晶司 (名古屋大学医学部)
 山口 俊晴 (京都府立医科大学) 由良 二郎 (名古屋市立大学医学部)
- 1992 赤沢 修吾 (埼玉県立がんセンター) 秋根 康之 (国立がんセンター中央病院)
 (12卷) 貝原 信明 (鳥取大学医学部) 兼松 隆之 (長崎大学医学部)
 河村 栄二 (北里研究所病院) 菊池 潔 (財慶がんセンター)
 木本 安彦 (大阪大学微生物病研究所附属病院) 葛巻 暹 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
 琴浦 良彦 (京都大学医学部) 斎藤 貴生 (大分医科大学)
 澤武 紀雄 (金沢大学がん研究所) 設楽 信行 (東京都立駒込病院)
 柴田 昭 (新潟大学医学部) 土井 修 (大阪府立成人病センター)
 奈良 信雄 (東京医科歯科大学医学部) 西村 孝司 (東海大学医学部)
 山下 純宏 (金沢大学医学部) 吉開 泰信 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
- 1993 阿部 力哉 (福島県立医科大学) 大熨 泰亮 (岡山大学医学部)

- 1993 片山 憲特 (聖マリアンナ医科大学)
 (13卷) 栗原 稔 (昭和大学附属豊洲病院)
 藪田 精昭 (京都府立医科大学)
 武市 紀年 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
 土田 嘉昭 (東京大学医学部)
 富田 幹夫 (埼玉県立がんセンター研究所)
 濱田 洋文 (癌研・癌化学療法センター)
 平岡 真寛 (京都大学医学部)
 吉田 松年 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
- 1994 相羽 恵介 (癌研・癌化学療法センター)
 (14卷) 今村 正之 (京都大学医学部)
 折笠 精一 (東北大学医学部)
 小柳 知彦 (北海道大学医学部)
 清木 元治 (金沢大学がん研究所)
 直江 知樹 (名古屋大学医学部附属病院)
 浜口 道成 (名古屋大学医学部)
 藤本 修一 (千葉県がんセンター)
 山崎 俊樹 (島根医科大学)
- 1995 岡本 尚 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所)
 (15卷) 佐藤忠比古 (国立郡山病院)
 嶋田 紘 (横浜市立大学医学部)
 田中 公夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 花井 彩 (大阪府立成人病センター)
 磨伊 正義 (金沢大学がん研究所)
 森 茂郎 (東京大学医科学研究所)
 和氣 徳夫 (九州大学生体防御医学研究所)
- 1996 有井 滋樹 (京都大学医学研究科)
 (16卷) 伊東 恭悟 (久留米大学医学部)
 小澤 敬也 (自治医科大学血液医学研究部門)
 佐藤 靖史 (東北大学加齢医学研究所)
 杉本 芳一 (癌研・癌化学療法センター)
 多羅尾和郎 (神奈川県立がんセンター)
 三角 順一 (大分医科大学医学部)
 山脇 成人 (広島大学医学部)
- 1997 西條 長宏 (国立がんセンター研究所)
 (17卷) 瀬戸 加大 (愛知県がんセンター研究所)
- 北島 政樹 (慶應義塾大学医学部)
 小池 克郎 (癌研・癌研究所)
 高見 博 (帝京大学医学部)
 谷村 弘 (和歌山県立医科大学)
 戸井 雅和 (東京都立駒込病院)
 中村 恭一 (東京医科歯科大学医学部)
 平岡 諦 (大阪府立成人病センター)
 堀 勝義 (東北大学加齢医学研究所)
- 池田 恢 (国立がんセンター中央病院)
 岡田 全司 (九州大学生体防御医学研究所)
 菊地 浩吉 (札幌医科大学医学部)
 杉本 徹 (宮崎医科大学)
 田中 憲一 (新潟大学医学部)
 新田 泰三 (順天堂大学医学部)
 松崎 靖司 (筑波大学臨床医学系)
 柳澤 昭夫 (癌研・癌研究所)
 吉田 操 (東京都立駒込病院)
- 後藤 重則 (帝京大学生物工学研究センター)
 佐藤 宏 (帝京大学医学部)
 田崎 寛 (慶應義塾大学医学部)
 中村 剛 (長崎大学医療技術短期大学部)
 藤田 潤 (京都大学大学院医学研究科)
 間野 博行 (自治医科大学医学部)
 柳川 堯 (九州大学大学院数理学研究科)
- 石川 治 (大阪府立成人病センター)
 大川 治夫 (筑波大学臨床医学系)
 酒井 正彦 (関西電力病院)
 執印 太郎 (高知医科大学)
 谷 憲三朗 (東京大学医科学研究所)
 松村 保広 (国立がんセンター中央病院)
 宮崎 澄雄 (佐賀医科大学医学部)
 吉村 昭彦 (久留米大学生命科学研究所)
 神保 孝一 (札幌医科大学)
 田中 雅夫 (九州大学医学部)

- 1997 丹後 俊郎 (国立公衆衛生院疫学部)
(17卷) 中川原 章 (千葉県がんセンター)
堀井 明 (東北大学大学院医学系研究科)
- 1998 小山 博史 (国立がんセンター中央病院)
(18卷) 高後 裕 (旭川医科大学)
巽 典之 (大阪市立大学医学部)
名川 弘一 (東京大学医学部)
萩原 正敏 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
不破 信和 (愛知県がんセンター)
村井 勝 (慶應義塾大学医学部)
矢守 隆夫 (癌研・癌化学療法センター)
- 1999 井上 俊彦 (大阪大学大学院)
(19卷) 大瀧 慈 (広島大学原爆放射能医学研究所)
河上 裕 (慶應義塾大学医学部先端医学研究所)
高山 哲治 (札幌医科大学)
土田 正則 (新潟大学医学部)
万代 昌紀 (京都大学医学部)
森脇 久隆 (岐阜大学医学部)
渡邊 武 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2000 井上 正樹 (金沢大学医学部)
(20卷) 河野 文夫 (国立熊本病院)
久保 敦司 (慶應義塾大学医学部)
佐藤 博 (金沢大学がん研究所)
中野 修治 (九州大学大学院)
福本 学 (東北大学加齢医学研究所)
山口 佳之 (広島大学原爆放射能医学研究所)
吉田 知之 (東京医科大学)
- 2001 秋山 太 (癌研・癌研究所)
(21卷) 片野 光男 (九州大学大学院)
澤津橋基広 (佐賀医科大学)
田原 秀晃 (東京大学医科学研究所)
辻 晃仁 (高知県立中央病院)
野島 博 (大阪大学微生物病研究所)
村垣 善浩 (東京女子医科大学脳神経センター)
若杉 尋 (国立がんセンター研究所)
- 2002 秋田 弘俊 (北海道大学大学院)
- 手島 昭樹 (大阪大学医学部)
野田 哲生 (癌研・癌研究所)
松山 裕 (東京大学大学院医学系研究科)
烏野 隆博 (大阪府立成人病センター)
佐藤 昇志 (札幌医科大学医学部)
中島 秀彰 (国立病院九州がんセンター)
登 勉 (三重大学医学部)
畠 清彦 (自治医科大学)
前谷 俊三 (天理よろず相談所医学研究所)
安元 公正 (産業医科大学医学部)
- 大上 研二 (東海大学医学部)
加賀谷有行 (広島大学医学部)
真貝 洋一 (京都大学ウイルス研究所)
田中 淳司 (北海道大学医学部)
野田 政樹 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
向田 直史 (金沢大学がん研究所)
吉貴 達寛 (滋賀医科大学)
- 奥野 清隆 (近畿大学医学部)
神奈木真理 (東京医科歯科大学医歯学総合研究科)
小西 文雄 (自治医科大学大宮医療センター)
田中 紘一 (京都大学大学院)
樋野 興夫 (癌研・癌研究所)
松村 明 (筑波大学臨床医学系)
吉川 秀樹 (大阪大学大学院)
- 東 俊文 (慶應義塾大学医学部)
小林 国彦 (埼玉県立がんセンター)
高橋 宗春 (東京大学医学部附属病院)
玉木 長良 (北海道大学大学院)
中島 格 (久留米大学医学部)
松崎 彰信 (九州大学医療技術短期大学部)
山本 博幸 (札幌医科大学)
- 遠藤 善裕 (滋賀医科大学)

- 2002 鎌野 俊紀 (順天堂大学医学部)
(22卷) 黄 政龍 (香川医科大学)
高橋 豊 (金沢大学がん研究所)
平塚 正弘 (大阪府立成人病センター)
- 2003 上本 伸二 (三重大学医学部)
(23卷) 神田 善伸 (東京大学医学部)
河野 浩二 (山梨大学医学部)
檜原 啓之 (大阪府立成人病センター)
堀口 裕 (慶應義塾大学医学部)
- 2004 魚住 公治 (鹿児島大学病院)
(24卷) 清宮 啓之 (癌研・癌化学療法センター)
田中 文啓 (京都大学医学部)
古谷 和久 (愛知県がんセンター)
森 正樹 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2005 熊谷 昌明 (国立成育医療センター)
(25卷) 國土 典宏 (東京大学医学部附属病院)
並木 幹夫 (金沢大学医学部附属病院)
長谷川好規 (名古屋大学医学部附属病院)
林 慎一 (東北大学医学部)
- 2006 泉本 修一 (大阪大学大学院)
(26卷) 太田 三徳 (近畿中央胸部疾患センター)
小林 浩 (奈良県立医科大学)
澤田 明久 (大阪府立母子保健総合医療センター)
福岡 和也 (兵庫医科大学)
- 2007 磯本 一 (長崎大学医学部・歯学部附属病院)
(27卷) 馬屋原健司 (癌研・有明病院)
篠浦 伸禎 (東京都立駒込病院)
高見 昭良 (金沢大学医学部附属病院)
- 2008 掛地 吉弘 (九州大学大学院)
(28卷) 新地 洋之 (鹿児島大学大学院)
松村 保広 (国立がんセンター東病院)
吉崎 智一 (金沢大学大学院)
- 2009 出水みいる (九州大学病院)
(29卷) 塚田 敬義 (岐阜大学大学院)
長谷川 潔 (東京大学大学院)
本田 五郎 (東京都立駒込病院)
- 小泉和三郎 (北里大学東病院)
高橋 慶一 (東京都立駒込病院)
戸田 正博 (慶應義塾大学医学部)
- 小野寺雅史 (筑波大学臨床医学系)
弦間 昭彦 (日本医科大学)
杉山 徹 (岩手医科大学医学部)
平井 康夫 (癌研・癌研究所)
- 河野 嘉文 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科)
高山 浩一 (九州大学病院)
中島 淳 (慶應義塾大学医学部)
星 宣次 (山形県立中央病院)
山本 昇 (国立がんセンター中央病院)
- 甲能 直幸 (杏林大学医学部)
土屋 弘行 (金沢大学大学院)
萩原 弘一 (埼玉医科大学)
羽生 大記 (大阪市立大学大学院)
日野 雅之 (大阪市立大学大学院)
- 井上 啓史 (高知大学医学部)
大東 弘明 (大阪府立成人病センター)
佐治 重衡 (東京都立駒込病院)
竹内 聡 (神戸医療センター)
藤井 正人 (東京医療センター)
- 上野 清伸 (大阪府立成人病センター)
椎名秀一郎 (東京大学医学部附属病院)
新地 洋之 (鹿児島大学医学部・歯学部附属病院)
細野 亜古 (国立がんセンター中央病院)
- 粕谷 英樹 (名古屋大学医学部)
竹島 信宏 (癌研・有明病院)
元雄 良治 (金沢医科大学)
渡邊 昌彦 (北里大学医学部)
高野 晋吾 (筑波大学大学院)
- 中森 正二 (大阪医療センター)
服部 豊 (慶應義塾大学薬学部)
宮田 博志 (大阪大学大学院)

- 2010 東 治人 (大阪医科大学) 石川 剛 (京都府立医科大学)
(30卷) 庄 雅之 (奈良県立医科大学) 楯 真一 (千葉大学大学院)
谷 眞至 (和歌山県立医科大学) 津田 浩史 (慶應義塾大学医学部)
藤原 義之 (大阪大学大学院) 山口 和也 (岐阜大学医学部)
- 2011 江口 英利 (大阪大学大学院医学系研究科) 菊地 栄次 (慶應義塾大学医学部)
(31卷) 堤 莊一 (群馬大学大学院医学系研究科) 藤谷 和正 (国立病院機構大阪医療センター)
本告 正明 (大阪府立成人病センター) 宮田 康好 (長崎大学病院)
宮田 義浩 (広島大学原爆放射線医科学研究所) 元井 冬彦 (東北大学病院)
山下 継史 (北里大学医学部)
- 2012 浦本 秀隆 (産業医科大学) 葛西 和博 (岩手医科大学医学部)
(32卷) 小西 毅 (がん研究会有明病院) 佐藤 康史 (札幌医科大学)
澤木 正孝 (愛知県がんセンター中央病院) 高橋 秀典 (大阪府立成人病センター)
谷岡 真樹 (兵庫県立がんセンター) 本間 尚子 (東京都健康長寿医療センター研究所)
松木 絵里 (慶應義塾大学病院) 村上 英樹 (金沢大学整形外科)
- 2013 井上 啓史 (高知大学教育研究部) 沖 英次 (九州大学病院)
(33卷) 河合 憲康 (名古屋市立大学大学院医学研究科) 北郷 実 (慶應義塾大学医学部)
黒川 幸典 (大阪大学大学院医学系研究科) 笹田 哲朗 (久留米大学医学部)
島崎 猛夫 (金沢医科大学総合医学研究所) 種村 匡弘 (呉医療センター・中国がんセンター)
野尻 俊輔 (名古屋市立大学病院) 丸橋 繁 (大阪府立成人病センター)
- 2014 木下 学 (大阪府立成人病センター) 小坂 威雄 (慶應義塾大学医学部)
(34卷) 小西 毅 (がん研究会有明病院) 末原 義之 (順天堂大学医学部)
高橋 信 (東北大学加齢医学研究所) 谷内 恵介 (高知大学医学部附属病院)
富田 直人 (横浜市立大学大学院医学研究科) 中前 博久 (大阪市立大学大学院医学研究科)
南谷 泰仁 (東京大学医学部附属病院) 長谷川大一郎 (兵庫県立こども病院)
- 2015 石山 博條 (北里大学医学部) 板野 理 (慶應義塾大学医学部)
(35卷) 里井 壯平 (関西医科大学) 白石 治 (近畿大学医学部)
高張 大亮 (がん研究会有明病院) 内藤 立暁 (静岡県立静岡がんセンター)
西田 純幸 (大阪大学医学部附属病院) 林 洋光 (熊本大学大学院生命科学研究部)
水島 恒和 (大阪大学大学院医学系研究科)
- 2016 伊佐山浩通 (東京大学大学院医学系研究科) 小沼 貴晶 (東京大学医科学研究所附属病院)
(36卷) 佐伯 浩司 (九州大学大学院) 杉村啓二郎 (大阪府立成人病センター)
瀧口 修司 (大阪大学医学系研究科) 藤阪 保仁 (大阪医科大学附属病院)
前田 亮 (藤田保健衛生大学) 若槻 尊 (がん研究会有明病院)
- 2017 秋田 裕史 (大阪国際がんセンター) 泉 浩二 (金沢大学大学院医薬保健学総合研究科)
(37卷) 神田 光郎 (名古屋大学医学部附属病院) 野見 武男 (奈良県立医科大学)
馬場 祥史 (熊本大学大学院生命科学研究部)

がん治療のあゆみ 第38巻

平成31年 3月25日 印刷
平成31年 3月31日 発行

非 売 品

発行人 公益財団法人
がん集学的治療研究財団
前 原 喜 彦

お問い合わせは下記にお願いいたします。
〒136-0071 東京都江東区亀戸1-28-6
タニビル3F
電話 (03)5627-7593

印刷所 (株)糸川印刷

本書の内容の一部あるいは全部を無断で、複写機器等いかなる方法によっても複写・複製することは、法律で認められた場合を除き、著作者および出版者の権利の侵害になりますので、予め小社の許諾を求めて下さい。

