

## 156. 低酸素低栄養環境下の膵癌細胞での遺伝子変異の探索

青山 徹

\*神奈川県立がんセンター 消化器外科

Key words : 膵癌, 補助化学療法, hENT

### 緒 言

膵癌は最も予後の悪い癌の一つであり、日本における癌死因の第5位を占めている。2013年の膵癌治療ガイドラインでは、切除不能膵癌に対する標準的治療は国内外の第III相試験の結果からゲムシタビン（以下、GEM）を主体とした全身化学療法が推奨されている。また、治癒切除後の膵癌の補助療法はJASPAC01試験でS-1療法の有効性が示されたもののS-1療法施行不能例では依然としてGEM療法が推奨される治療となっている。GEMは切除不能膵癌および切除可能膵癌治療の両者において最も重要なキードラックである。しなしながら、膵癌におけるGEMを用いた化学療法は膵癌の予後の改善をもたらしているが、その効果は個人差を認める。また、切除可能膵癌の補助療法施行例ではS-1補助療法との薬剤の使い分けが一つの課題になっている。このため、GEM療法による治療効果予測因子が同定できれば、膵癌（特に切除可能膵癌）に対して安全かつ効果的な治療が提供できる可能性がある。近年、human equilibrative transporter 1（以下、hENT）の高発現群では、癌の生物学的悪性度が低く、無再発生存期間・生存期間ともに長いことが分かってきた。hENTは、膵癌の標準治療薬であるGEMの薬剤耐性化因子で、hENT低発現群ではGEMの治療効果が低いとの報告が散見されるが十分な解析がなされているとは言えない。本研究で、GEMを用いた膵癌術後補助化学療法施行例においてhENTの発現と治療効果との関連が同定できれば、hENT1の情報と合わせてより膵癌術後患者により最適な術後補助化学療法を提供できると考えられる。

### 方 法

2005年から2014年までの10年間に、神奈川県立がんセンター肝胆膵外科で治癒切除された膵癌症例200例を対象とした。外科切除材料のformalin-fixed paraffin-embedded（FFPE）ブロックから、膵癌症例200例の組織アレイを作製した。組織アレイには各症例毎に複数のがん部を標本化した。作製した組織アレイで、hENTの免疫染色を実施した。hENTは主病変の通常病理組織切片で免疫染色を実施した結果があるので、腫瘍組織内heterogeneityを考慮した組織アレイ解析結果の信頼性の評価にも利用した。また、代表的なhENTの陽性例、陰性例については、FFPE切片からRNAを抽出して定量的RT-PCRによりmRNA発現との相関についても解析した。hENTの発現解析結果と患者臨床情報、特に、GEM術後補助化学療法の効果について統計学的な相関解析を実施した。本研究の対象症例200例については、神奈川県立がんセンターのがん研究への試料提供への包括的な同意が書面により得られている。本研究計画については、当センターIRBの疫学・観察研究の迅速審査を受け承認された。

### 結 果

対象の200例のうち本研究の対象となった症例は101例であった。対象の年齢の中央値は66歳（range: 40 - 78）、男性が57例/女性が44例、28例が膵体尾部切除/70例が膵頭十二指腸切除/3例が膵全摘術をそれぞれ施行、85例がR0切除で16例がR1切除であった。観察期間の中央値は67.3か月（range: 22.2 - 122.7か月）であった。hENT陽性症例は、60例（59.4%）であった。hENT陽性群とhENT陰性群で、年齢・性別・腫瘍の進行度などを比較検討すると、両群で明らかな差を認める因子はなかった。hENTの予後への影響を検討すると、3年と5年の全生存率はhENT陽性症例では32.2%と20.6%、hENT陰性症例では8.9%と8.9%と有意な差を認めた（図1）。

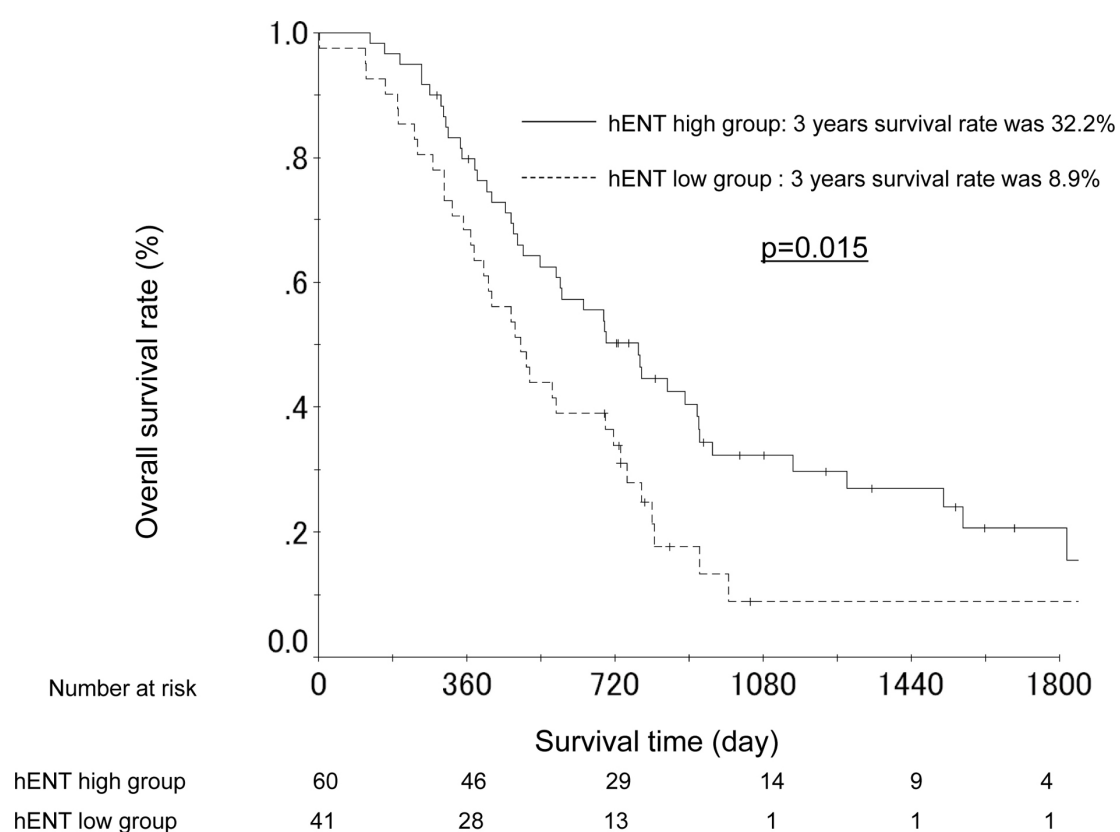


図1. 全生存期間の比較

生存率に関わるリスク因子解析を施行し、年齢・性別・R因子・腫瘍占拠部位・病理学的T因子・病理学的N因子・脈管浸潤の有無・hENTのステータスを調整因子として、単変量・多変量解析を行った。解析の結果、脈管浸潤の有無（有 vs 無、HR比：2.250、P値：0.001）・hENTのステータス（陽性 vs 陰性、HR比：1.740、P値：0.019）が独立した危険因子となった。さらに3年と5年の無再発生存率を比較すると、hENT陽性症例では23.8%と6.8%、hENT陰性症例では9.4%と9.4%と有意な差を認めた（図2）。

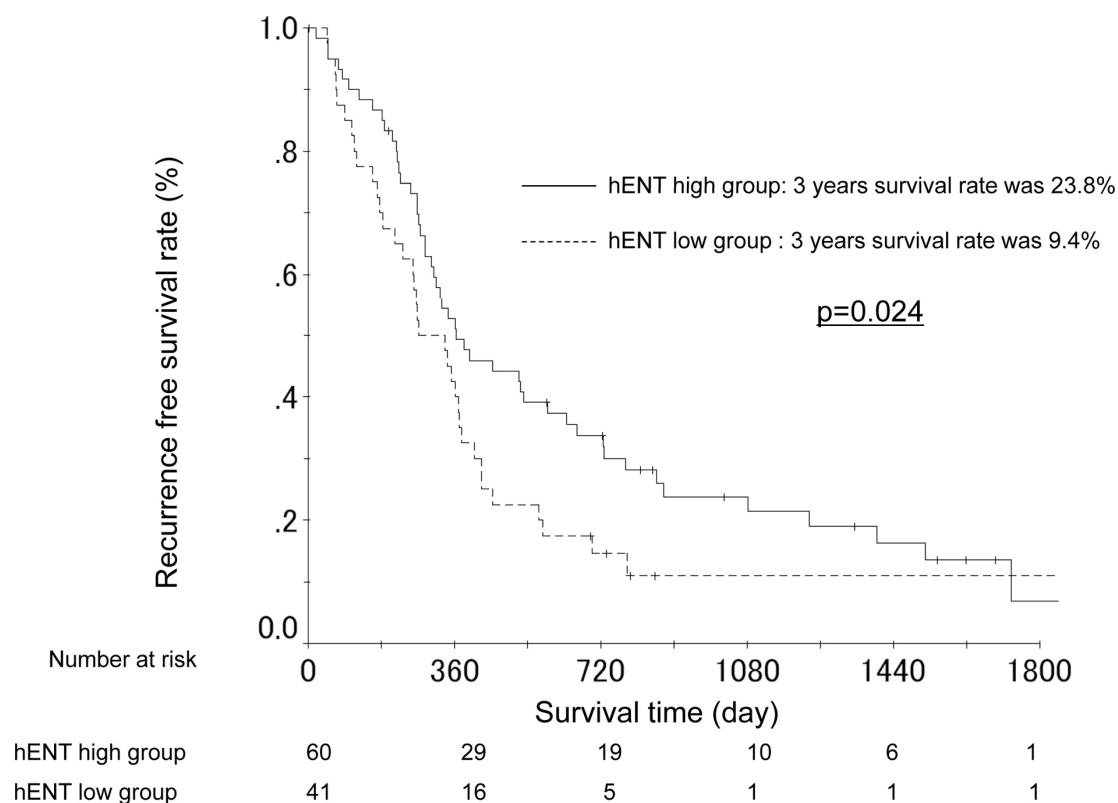


図2. 無再発生存期間の比較

生存率に関わるリスク因子解析を施行し、年齢・性別・R因子・腫瘍占拠部位・病理学的T因子・病理学的N因子・脈管浸潤の有無・hENTのステータスを調整因子として、単変量・多変量解析を行った。解析の結果、R因子（R0 vs R1、HR比：1.931、P値：0.036）・脈管浸潤の有無（有 vs 無、HR比：2.199、P値：0.001）・hENTのステータス（陽性 vs 陰性、HR比：1.574、P値：0.049）が独立した危険因子となった<sup>1)</sup>。

## 考 察

今回の検討から膀胱癌根治切除後のhENTの発現頻度は60%程度であり、さらに術後GEM補助療法施行した症例において全生存および無再発生存に関わる重要な因子であることがわかった。hENTの予後因子としての意義は、過去にも報告されている。しかしながら、過去の報告では、少数例での検討や病態が異なる切除不能膀胱癌と切除可能膀胱癌の両者を含んだ検討、さらに化学療法の統一が図られていない報告が多い<sup>2-8)</sup>。このため、100例以上の切除可能性膀胱癌症例を用いて、同一の術後GEM補助療法を施行した症例での検討は、今回の報告がはじめてであり、臨床的に意義のある検討考えられる。一方で、単施設の後向き検討であり、またhENTの測定方法が確立されていないことが問題点としてあげられる。今後のhENTの至適な測定方法の確立し、切除可能膀胱癌の症例でのさらなる検討が必要と考えられた。

## 共同研究者

本研究の共同研究者は、神奈川県立がんセンター臨床研究所部長の宮城洋平である。

## 文 献

- 1) Toru Aoyama, Keisuke Kazama, Yohei Miyagi, Masaaki Murakawa, Koichiro Yamaoku, Yosuke Atsumi, Manabu Shiozawa, Makoto Ueno, Manabu Morimoto, Takashi Oshima, Norio Yukawa, Takaki Yoshikawa, Yasushi Rino, Munetaka Masuda, and Soichiro Morinaga; The Predictive Role of Human Equilibrative

- Transporter 1 (hENT-1) in Pancreatic Cancer Patients who Undergo Curative Resection Followed by Adjuvant Chemotherapy with Gemcitabine alone. *Oncology letters* 2016 (in press)
- 2) Mackey JR, Mani RS, Selner M, Mowles D, Young JD, Belt JA, et al. Functional nucleoside transporters are required for gemcitabine influx and manifestation of toxicity in cancer cell lines. *Cancer Res.* 1998; 58: 4349–57. PMID: 9766663.
  - 3) Pérez-Torras S, García-Manteiga J, Mercadé E, Casado FJ, Carbó N, Pastor-Anglada M, et al. Adenoviral-mediated overexpression of human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT-1) enhances gemcitabine response in human pancreatic cancer. *Biochem Pharmacol.* 2008; 76: 322-329. PMID: 18589402. DOI: 10.1016/j.bcp.2008.05.011.
  - 4) Mori R, Ishikawa T, Ichikawa Y, Taniguchi K, Matsuyama R, Ueda M, et al. Human equilibrative nucleoside transporter 1 is associated with the chemosensitivity of gemcitabine in human pancreatic adenocarcinoma and biliary tract carcinoma cells. *Oncol Rep.* 2007; 17: 1201- 1205. PMID: 17390066.
  - 5) Giovannetti E, Del Tacca M, Mey V, Funel N, Nannizzi S, Ricci S, et al. Transcription analysis of human equilibrative nucleoside transporter-1 predicts survival in pancreas cancer patients treated with gemcitabine. *Cancer Res.* 2006;66:3928–35. PMID: 16585222. DOI: 10.1158/0008-5472.
  - 6) Spratlin J, Sangha R, Glubrecht D, Dabbagh L, Young JD, Dumontet C, et al. The absence of human equilibrative nucleoside transporter 1 is associated with reduced survival in patients with gemcitabine-treated pancreas adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004;10:6956 – 61. PMID: 15501974. DOI: 10.1158/1078-0432.
  - 7) Farrell JJ, Elsaleh H, Garcia M, Lai R, Ammar A, Regine WF, et al. Human equilibrative nucleoside transporter 1 levels predict response to gemcitabine in patients with pancreatic cancer. *Gastroenterology.* 2009;136:187–95. PMID: 18992248. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.067.
  - 8) Marechal R, Mackey JR, Lai R, Demetter P, Peeters M, Polus M, et al. Human equilibrative nucleoside transporter 1 and human concentrative nucleoside transporter 3 predict survival after adjuvant gemcitabine therapy in resected pancreatic adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2009;15:2913–9. PMID: 19318496. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2080.