

〔別紙 1〕

論文の内容の要旨

論文題目： 進行直腸癌に対する術前放射線感受性予測の検討

指導教官： 名川 弘一教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 12 年 4 月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名： 小室 安宏

背景：

大腸癌に対する主たる治療は手術療法である。しかし、直腸癌の手術単独治療による術後の局所再発率は 11-28%であり、結腸癌の局所再発率の 3%と比べると高い傾向にある。その局所再発率を減少させる目的で、進行直腸癌に対する補助療法としての術前放射線療法（以下術前照射）が、主に欧米で広く行われており、東京大学腫瘍外科でも、1985 年より進行直腸癌に対して術前照射を行っており、その有用性を報告してきた。しかし、進行直腸癌の術前照射による縮小効果は、腫瘍は全体の 35-44%の症例にみられるのみであり、放射線感受性の高い腫瘍に術前照射を行うためには、照射前に効果例を選別することが重要な課題であると考えられる。

放射線感受性を照射前に予測できる因子がわかれば、術前照射が効果的な症例の選択に役立ち、放射線照射効果が少ないと予想される症例には化学療法などの Adjuvant な治療を加えるといった集学的治療が考えられる。今回注目した Ku タンパクは、DNA の修復に関わるタンパクであり、70-kilodalton の Ku70、86-kilodalton の Ku86 のヘテロダイマーより構成されており、放射線照射により誘導された DNA の 2 本鎖損傷を認識し、DNA 依存性プロテインキナーゼを活性化させて、DNA の修復に寄与すると考えられている。Ku タンパクの発現が低下している細胞では、放射線照射により DNA 2 本鎖の損傷を修復できず、細胞死に至るメカニズムが考えられており、in vitro の研究において、実際に Ku タンパクの発現を調べることで、腫瘍の放射線感受性が予測できることが報告されている。しかし、臨床症例では子宮頸癌における報告がみられるのみで、直腸癌については報告がない。そこで本研究では、照射前の生検標本における Ku タンパクの発現を調べることで、放射線感

受性を予測できるかを検討した。

また、p53 は癌抑制遺伝子として広く知られているが、放射線照射による DNA 損傷にて p53 は活性化し、細胞周期などの調節に関与することが報告されている。直腸癌において、p53 と放射線感受性に関しては、これまで、p53 の変異により腫瘍が放射線低感受性になるという報告があるが、一方、相関が認められないとする報告もあり、p53 と放射線感受性の関係は必ずしも明らかにされていないのが現状である。また、p53 の下流に位置するサイクリンインヒビターである p21 や p16 は細胞周期を調節しており、腫瘍細胞での発現が低下することにより、放射線低感受性になることが報告されている。しかし、直腸癌においては、p16 の発現と放射線感受性の関係に関する報告はなく、p21 に関しても報告は少なく、p53、p21、p16 の発現を同時に検討している報告もない。

目的：

1) 進行直腸癌の放射線照射前の生検組織中の Ku タンパクの発現を調べることは組織学的放射線感受性の有無を予測できるか、また、局所再発率、無再発生存率と関連性があるかを明らかにする。

2) Ku タンパクに加え、p53、p21、p16 の発現を検討することが組織学的放射線感受性の有無を予測できるか、また、局所再発率、無再発生存率をとの関連性があるかを明らかにする。

検討：

検討 1) Ku タンパクと進行直腸癌における組織学的放射線感受性、局所再発率、および無再発生存率との関連の検討

・対象および方法

1985 年 1 月から 2000 年 12 月まで、東京大学腫瘍外科で、術前照射をうけた進行直腸癌の手術症例 96 例を対象とした。Ku70 および Ku86 に対して、Streptoavidin-biotin peroxidase complex technique を用いて免疫組織学的検討を行った。Ku70 および Ku86 発現の評価は、照射前生検標本において、光学顕微鏡を用いて、1 視野あたり 100 個の腫瘍細胞を 10 視野計測し、そのうち染色された細胞数の百分率を算出した。Ku タンパクの陽性率を、96 症例すべてにおいて算出し、さらに中央値にて 2 群に分類した。Ku70、Ku86 それぞれの中央値以上の群を、Ku70 陽性群、Ku86 陽性群と定義した。中央値未満の群は Ku70 陰性群、Ku86 陰性群と定義した。放射線感受性の評価は、大腸癌取扱い規約の組織学的効果判定基

準に従い、照射後の摘出標本において、腫瘍細胞が 3 分の 2 以上に著明な変性・壊死ならびに融解などを認めるものを放射線高感受性群と定義した。腫瘍細胞の変性・壊死ならびに融解などが 3 分の 1 未満しかみられないものを放射線低感受性群と定義した。

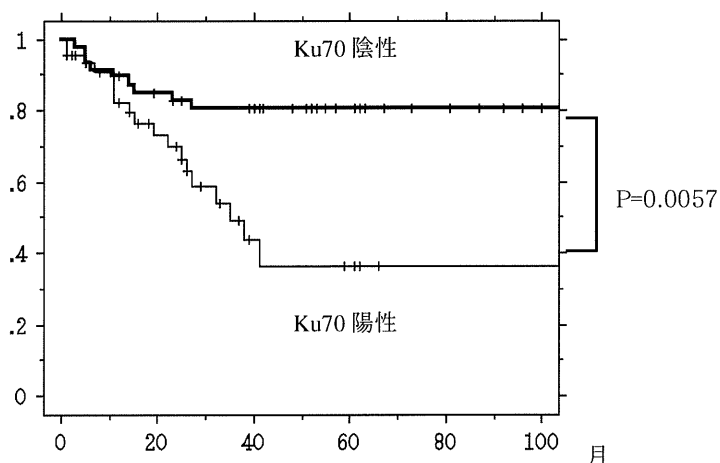
・結果

Ku70 および Ku86 とも腫瘍細胞の核に染色が認められた。Ku70 および Ku86 の発現には統計学的に有意な相関が認められた ($r=0.85$, $P<0.0001$)。Ku70、Ku86 の発現は、ともに組織効果判定と関連が認められ、統計学的に有意であった (表 1) ($P=0.0001$, $P<0.0001$)。Ku70、Ku86 ともに陰性群は、陽性群に比して、統計学的有意に局所再発率が低かった ($P=0.016$, $P=0.014$)。Ku70、Ku86 ともに陰性群が陽性群に比して、統計学的に有意に無再発生存率が高かった ($P=0.0057$, $P=0.022$) (図 1)。無再発生存率に影響をおよぼした統計学的に有意な因子であった Ku70 の発現、Ku86 の発現、pTNM 分類、病理組織学的分類に対して、多変量解析を施行した結果、統計学的に有意な因子として、Ku70 の発現、pTNM 分類、病理組織学的分類の 3 因子が選択された。

表 1. Ku70 および Ku86 の発現と組織学的放射線感受性

	組織学的 放射線高感受性群	組織学的 放射線低感受性群	P
Ku70			
陰性	27	21	0.0001
陽性	8	40	
Ku86			
陰性	30	18	<0.0001
陽性	5	43	

図 1. Ku70 の発現と無再発生存率



検討2) Ku タンパク、 p53、 p21、 p16 の組合せと進行直腸癌における術前放射線感受性局所再発率、 および無再発生存率との関連の検討

・対象および方法

p53、 p21、 p16 に対する免疫組織学的検討 Streptoavidin-biotin peroxidase complex technique を用いて染色を行った。Ku70 陽性かつ Ku86 陽性群を Ku 陽性群、 Ku70 陰性かつ Ku86 陰性群を Ku 陰性群と定義した。その他、対象や方法は検討1に準じて行った。

・結果

p53、 p21 は腫瘍細胞の核が染色され、 p16 は核および細胞質が染色された。 p53、 p21、 p16 の発現は、すべて組織効果判定と関連がみられ、統計学的に有意であった (P=0.035、 P=0.021、 P=0.0009)。 Ku、 p53 陰性群が放射線高感受性のようであり、 p21、 p16 陽性群が放射線高感受性のようであった。 Ku、 p53、 p21、 p16 の発現と組織学的放射線感受性の関係を、ロジスティック回帰による多変量解析にて検討した結果 Ku および p16 が統計学的に有意な予測因子であった (P=0.0005、 P=0.033) Ku、 p16 の組合せと組織学的放射線感受性の関係を検討し、 Ku 陰性 p16 陽性、中間群 (Ku 陽性 p16 陽性、 Ku 陰性 p16 陰性)、 および Ku 陽性 p16 陰性の 3 項目と組織学的放射線感受性の有無の間に統計学的有意な関連がみられた (P<0.0001)。 Ku、 p53、 p21、 p16 の発現の中で局所再発率、無再発生存率との関連がみられたのは Ku の発現であり、 p53、 p21、 p16 の発現は有意な予測因子とはなり得なかった。

結論：

1) 本研究では、Ku タンパクの発現の検討が、進行直腸癌に対する術前放射線の感受性を予測できるかについての検討を行った。 Ku70 および Ku86 の発現を調べることは、腫瘍の組織学的放射線感受性の予測および予後因子として有用であった。進行直腸癌の患者において Ku タンパクの発現を調べることは、術前照射が効果的な症例の選択に役立つと考えられた。

2) Ku タンパク、 p53、 p21、 p16 発現と組織学的放射線感受性の有無に関連がみられた。多変量解析により Ku および p16 が有意な組織学的放射線感受性の予測因子であった。一方、 p53、 p21、 p16 は局所再発率、無再発生存率に関しては統計学的有意な予測因子ではなかった。