

[別紙1]

論文の内容の要旨

論文題目 Catechol-*O*-methyltransferase 遺伝子 Val158Met 多型
解析は前立腺癌に対するリン酸エストラムスチン療法の
治療予後の予測に有用である

指導教官 北村唯一教授

東京大学大学院医学系研究科

平成13年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 鈴木基文

1 目的

リン酸エストラムスチン (EMP) は前立腺癌に用いられる内分泌化学療法剤である。17 β -estradiol と nor-nitrogen mustard が結合した化学構造を持ち、EMP の代謝過程において 17 β -estradiol が生成されることが知られている。2-methoxyestradiol (2ME2) は 17 β -estradiol の代謝産物であり、腫瘍増殖抑制効果並びに血管新生抑制作用を持つ新規抗癌剤として注目されている。

2ME2 の生成に関わる酵素は catechol-*O*-methyltransferase (COMT) である。158番目のコドンがバリン (Val) である場合の COMT 活性に比べて、同コドンがメチオニン (Met) である場合、その酵素活性が 1/3 から 1/4 に低下していることが報告されている。

ヒト前立腺癌細胞株 PC-3 を用いて 2ME2 の殺細胞効果を MTT 法により確認したところ、2ME2 は濃度依存性に細胞増殖を抑制していた。また EMP に COMT 阻害剤を添加したところ、EMP の殺細胞効果はわずかながらも減弱することが分

かった。

そこで、EMP の代謝産物である 17 β -estradiol から 2ME2 が生成され、2ME2 が EMP 療法の治療効果の一部を担うと仮定し、Val158Met COMT 遺伝子多型と EMP 療法の治療予後との相関について検討した。

2 方法

2.1 対象患者と低用量 EMP 療法

本研究の意義と方法について、記名によるインフォームドコンセントを得られた未治療前立腺患者 72 症例について、低用量 EMP 療法を行った。72 例中 32 例には EMP 280 mg/day 経口単独投与を行い、40 例に対しては EMP 140 mg/day または 280 mg/day 経口投与+LH-RH agonist 皮下注射または外科的去勢による治療を施行した。治療効果の判定には前立腺特異抗原 (prostate specific antigen; PSA) 値を用いた。PSA 値が nadir 値から 3 回連続して上昇した場合、最初に PSA 値が 4.0 ng/mL を超えた期日を生化学的 PSA 再燃と定義した。

2.2 Val158Met COMT 遺伝子多型の判定

検体は患者末梢白血球 (コントロール群においては腎臓) から抽出したゲノム DNA を使用した。前立腺癌 Val158Met COMT 遺伝子多型を含む領域をポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法によって増幅させ、制限酵素 *Nla*III による切断を行い、制限断片長多型 (RFLP) を 4%アガロースゲル泳動にて判別した。ヒト前立腺癌細胞株から抽出した DNA についても同様にタイピングを行った。RFLP 法の結果は TaqMan 法によって追試した。

2.3 統計解析

患者背景のうち tumor status、Gleason score、治療方法の比較および Hardy-Weinberg 平衡 (HWE)、アレル頻度の検定には χ^2 テストを用いた。年齢、治療前 PSA 値、治療開始 4 週間後の血清 17 β -estradiol 値、血清 testosterone 値の比較、検定には unpaired t test を用いた。前立腺癌発症リスクの解析および副作用の種類と Val158Met COMT 遺伝子多型との関連については名義ロジスティック回帰によりオッズ比と 95%信頼区間を求めた。生存時間分析には Kaplan-Meier 法を用い、群間の有意差検定には log-rank 検定を用いた。また、多変量解析には Cox 回帰モデルを用いた。本研究の primary end point は生化学的再燃 (biochemical PSA failure) とし、低用量 EMP 療法開始から生化学的再燃までの期間を PSA failure-free survival とした。統計処理には JMP

software version 4.0.5 (SAS, Cary, NC, USA)を使用し、 $P < 0.05$ を統計学的有意差ありと判定した。

3 結果

3.1 Val158Met COMT 遺伝子多型タイピングの結果

患者群の遺伝子型の分布はそれぞれ Val/Val 遺伝子型群 26 人 (36.1%)、Val/Met 遺伝子型群 42 人 (58.3%)、Met/Met 遺伝子型群 4 人 (5.6%) であった。コントロール群における遺伝子型の分布はそれぞれ Val/Val 遺伝子型群 65 人 (45.1%)、Val/Met 遺伝子型群 64 人 (44.4%)、Met/Met 遺伝子型群 15 人 (10.4%) であった。Val158Met COMT 遺伝子多型と前立腺癌発症のリスクについて Val/Val 遺伝子型群を対照とした結果、いずれの遺伝子型も前立腺癌発症の有意なリスクファクターとはなっていなかった。患者群の遺伝子型の分布は HWE から逸脱していた ($P=0.015$)。一方、コントロール群における遺伝子型の分布は HWE から逸脱していなかった ($P=0.897$)。アレル頻度については患者群とコントロール群の間で有意差はなかった ($P=0.350$)。

3.2 患者群の背景因子の比較

患者群について Val/Val 遺伝子型群と Val/Met or Met/Met 遺伝子型群の二群に分けて背景因子 (年齢、tumor status、Gleason score、治療方法、治療前 PSA 値) を比較したが、いずれの背景因子も二群間に有意差を認めなかった。治療開始 4 週間後の血清 17β -estradiol 値、血清 testosterone 値を二群間で比較したが、ともに有意差はなかった。

3.3 Val158Met COMT 遺伝子多型と低用量 EMP 療法の子後、副作用との関連

Val/Val 遺伝子型群は Val/Met or Met/Met 遺伝子型群と比較して有意に生化学的非再燃率が高かった ($P=0.027$)。EMP 単独療法を行った患者に限定して同様の検討を行った結果、非再燃率は Val/Val 遺伝子型群で有意に高かった ($P=0.044$)。多変量解析の結果、Val158Met COMT 遺伝子多型は生化学的 PSA 再燃率影響する有意な因子であり、ハザード比は 4.784 (95%信頼区間, 1.226 to 31.567) であった。副作用の種類は発症頻度の高い順から、肝機能障害 33 症例、消化器障害 (食欲低下、嘔気、嘔吐、胃痛など) 29 症例、下腿浮腫 23 症例となっていたが、Val158Met COMT 遺伝子多型は副作用発症の有意なリスクファクターではなかった。

4 考察

Val158Met COMT 遺伝子多型が前立腺癌に対する EMP 療法の PSA failure-free survival と関連することが明らかとなった。EMP 内服時における 2ME2 の血中濃度は現在のところ測定不可能であり、Val158Met COMT 遺伝子多型の遺伝子型と 2ME2 の血中濃度の相関については明らかに出来なかった。

EMP 療法に対する前立腺癌の薬剤感受性の側面からは、前立腺癌組織の ER 発現量や ER subtype を考慮することで、治療の個別化が可能になる可能性もあると考えた。

Val158Met COMT 遺伝子多型の遺伝子型の分布が HWE から逸脱していたことは、前立腺癌罹患集団における遺伝学的な特徴と捉えることが出来るかも知れない。

5 まとめ

Val158Met COMT 遺伝子多型は前立腺癌に対する EMP 療法の PSA failure-free survival と関連することが明らかにされた。Val158Met COMT 遺伝子多型が個別の症例における低用量 EMP 療法の治療成績の予測に有用である可能性が示された。