

201438028A

厚生労働科学研究委託費

革新的がん医療実用化研究事業

難治性食道がんの治療方針決定に資する  
技術開発に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 武藤 学

平成27(2015)年 3月

委託業務成果報告書への標記について

委託業務に係る成果報告書の表紙裏に、次の標記を行うものとする。

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業による委託業務として、国立大学法人京都大学が実施した平成26年度「難治性食道がんの治療方針決定に資する技術開発に関する研究（契約書第1条で定めた委託業務題目）」の成果を取りまとめたものです。

# 目 次

## I. 委託業務成果報告（総括）

難治性食道がんの治療方針決定に資する技術開発に関する研究	1
【武藤 学】	

## II. 委託業務成果報告（業務項目）

1. プロジェクトの総合推進、生体試料回収に関する体制整備、多施設共同研究の実施 多施設共同研究に関する検討会の実施、食道癌遺伝子サブタイプ体外診断薬の開発	11
【武藤 学】	
2. 食道癌化学放射線療法感受性に関わる遺伝子セットの評価、 多施設共同研究の実施、食道癌遺伝子サブタイプ体外診断薬の開発 食道癌化学放射線療法感受性および抵抗性に関わる要因の解明	16
【佐々木 博己】	
3. 生体試料回収に関する体制整備、多施設共同研究の実施 食道癌遺伝子サブタイプ体外診断薬の開発	21
【大橋 真也】	
4. ①多施設共同研究の実施 ②食道癌放射線治療感受性に関する研究	24
①②【西村 恭昌】 ①【猶本 良夫】 ①【石原 立】 ①【磯本 一】 ①【矢野 友規】 ①【堅田 親利】 ①【細川 歩】 ①【三梨 桂子】 ①【土山 寿志】 ②【坂中 克行】	

III. 学会等発表実績	33
--------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	別冊
-----------------	----

# I. 委託業務成果報告書(総括)

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告書（総括）

難治性食道がんの治療方針決定に資する技術開発に関する研究

業務主任者 武藤 学 京都大学大学院医学研究科 腫瘍薬物治療学講座 教授

研究要旨

本研究では、難治性がんである食道がんに対する革新的バイオマーカー開発を目的として、食道がん患者の治療前内視鏡検査時に、病変部から採取した生検組織からRNAを抽出して遺伝子発現解析を行い、その遺伝子発現パターンに基づいて食道がんの「サブタイプ分類」の検証を多施設共同研究として実施する。参加施設は10施設で、300例の登録を目標とする。研究者らはすでに、先行研究から、5つの内在性サブタイプを同定し、化学放射線療法が奏効し長期の無再発生存症例を期待できるサブタイプ群や治療抵抗性のサブタイプ群を同定しており、今回の試験においても、治療成績との相関を検討する。本研究成果により、食道がんの初回治療法選択時により効果の期待出来る治療が選択できる可能性があり、食道がんの予後向上に大きく貢献することが期待できる。本研究計画の1年目にあたる今年度においては、臨床研究を遂行するための体制整備を計画通り遂行することができた。

担当責任者	所属機関及び所属機関における職名
武藤 学	京都大学医学研究科・教授
佐々木博己	国立がん研究センター研究所・部門長
大橋 真也	京都大学医学研究科・助教
西村 恭昌	近畿大学医学部・教授
猶本 良夫	川崎医科大学・教授
石原 立	大阪府立成人病センター・部長
磯本 一	長崎大学病院・准教授
矢野 友規	国立がん研究センター東病院・医長
堅田 親利	北里大学医学部・講師
細川 歩	富山大学附属病院・講師
三梨 桂子	千葉県がんセンター・医員
土山 寿志	石川県立中央病院・部長
坂中 克行	京都大学医学研究科・助教

A. 研究目的

厚生労働省が掲げる「がん患者の5年生存率を20%向上させる」目標の実現には、最適な治療を初期治療から実施する必要があるが、一部の分子標的薬剤を除けば、どの患者にどの治療が最適かを個別に見極めることはできていない。本研究は、治療前に内視鏡下生検した食道がん組織の遺伝子発現をプロファイリングし、その結果に基づき食道癌のサブタイプ分類を行うことを主たる目的とともに、サブタイプ分類した患者群の、化学放射線療法、外科治療に対する治療効果を検討し、より根治性の高い個別化医療を実現するための革新的バイオマーカー開発を目指す。

B. 研究方法

本試験は、新規に食道がんと診断された患者の治療前内視鏡下生検組織（腫瘍組織）を用い

て、multiplex RT-PCRやカスタムDNAチップ等により治療感受性サブタイプを同定し、ガイドラインに従った治療、または患者が希望して受けた治療の効果を多施設において検証する前向きコホート研究を実施する。なお本試験は、サブタイプ分類の再現性と治療効果の相関をみるのが目的であり、治療感受性サブタイプによる治療法の振り分けなどの治療介入は行わない。

また、先行研究と先行特許明細書「扁平上皮がんに対する化学放射線療法の有効性を評価するための方法」（特願2014-194379）に明記されるCRT感受性Eタイプ（上皮形質）を分類可能な数100種のマーカー遺伝子リストの中から生物統計学的方法によって遺伝子を絞り込み、次世代シーケンサーやmultiplex RT-PCRによる診断の実用化開発を行う。

#### （倫理面への配慮）

本研究に関係する全ての研究者は「疫学研究に関する倫理指針（平成25年4月1日一部改正）」「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成25年2月8日全部改正）」「世界医師会ヘルシンキ宣言（2013年フォルタレザ改正）」「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン（平成22年9月17日改正）」に従って本登録を実施し、被験者の人権保護に努める。

### C. 研究結果

先行研究において、局所進行食道扁平上皮がん274症例の遺伝子発現プロファイルを基にした教師無しクラスター解析を行い、5種の内因性サブタイプ（B/7/E, F3/1a/M1, D/5/M2, 2a/I, 3b）を同定したが、E, M1, M2のうちM2タイプは根治的放射線化学療法（CRT）での5年生存率が全体で24%であったのに対し、Eタイプの5年生存率は74%であることを示した。両サブタイプは外科的切除や術前化学療法では予後に有意な差は認められなかった。これらの結果を受

けて、H26年度には製薬企業と特許を出願した（特願2014-194379）。

このクラスター解析で用いた遺伝子は、CRT高感受性Eタイプでは191種、低感受性M2タイプでは121種であった。次世代シーケンサーや定量的RT-PCRによる実用化を目指し、両サブタイプで特異的に発現する転写因子と共発現している遺伝子を相関係数が高い順に上位50種に絞り込み、再びクラスター解析を行った（図1）。

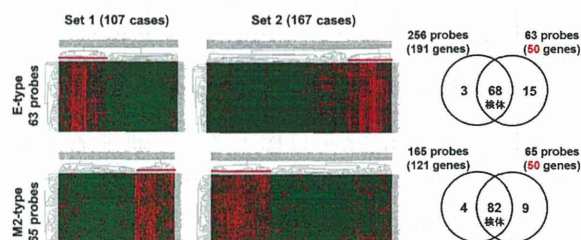


図1. CRT高感受性サブタイプEと低感受性サブタイプM2に特異的転写因子と共発現する上位50遺伝子による再分類

両サブタイプとも、先行研究で用いた遺伝子で分けた検体の96%、68/71（Eタイプ）、95%、82/84（M2タイプ）が同様に分類できた。一方で、各15、9例が新たに加わった。新たに分類された両サブタイプの完解率と1年間の無再発率を図2に示した。Eタイプでは各63.0%、59.3%と高く、M2タイプでは各22.0%、9.8%と低かった。また、Eタイプの5年生存率は66.0%、M2タイプは22.9%だった（図3）。

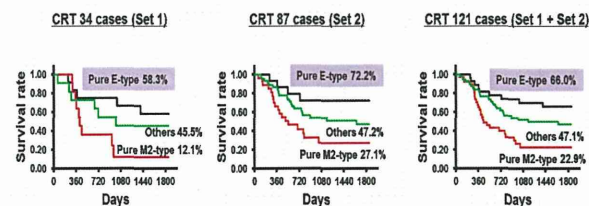


図3. 純E、M2サブタイプの生存曲線と5年生存率

平成26年10月31日に、本研究の共同研究を遂行する各施設の代表者が集まり、すでに承認されていた研究計画について討議する班会議を行った。その議論を踏まえて研究計画書を修正し、新たに「生体試料からの遺伝子発現プロファイルを用いた食道がんサブタイプ分類と治

療効果との関連に関する臨床評価試験」として、全参加施設およびデータセンターによるレビューを行い、平成26年12月17日に京都大学医学部附属病院医の倫理委員会に新たに提出した。平成27年1月15日に、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院の医の倫理委員会で本臨床を施行するための倫理的遵守事項の審査を受け承認された（承認番号G696）。検体の採取、回収、及び本研究のマネージメントを行う人員確保など、実施体制の整備を行い京都大学医学部附属病院では2015年3月より登録を開始した。

#### D. 考察

本研究成果により、治療前に難治性食道がんの治療方針を決定することができれば、無駄な治療を回避できるばかりか、治療成績の向上が見込まれる。

#### E. 結論

治療前に難治性食道がんの治療方針を決定することができる遺伝子発現サブタイプ分類の臨床応用に向けた研究を開始することができた。

#### F. 健康危険情報

現時点では特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Katada C, Muto M, Tanabe S, Higuchi K, Sasaki T, Azuma M, Ishido K, Katada N, Sakuramoto S, Yamashita K, Masaki T, Nakayama M, Okamoto M, Koizumi W. Factors associated with the presence of multiple Lugol-voiding lesions in patients with esophageal squamous-cell carcinoma. *Dis Esophagus*. 2014 Jul;27(5):457-62.
- 2) Yoshiyuki Yukawa, Shinya Ohashi, Yusuke Amanuma, Yukie Nakai, Mihoko Tsurumaki,

Osamu Kikuchi, Shin'ichi Miyamoto, Tsunehiro Oyama, Toshihiro Kawamoto, Tsutomu Chiba, Tomonari Matsuda, Manabu Muto. Impairment of aldehyde dehydrogenase 2 increases accumulation of acetaldehyde-derived DNA damage in the esophagus after ethanol ingestion. *Am J Cancer Res*. 4(3):279-284. 2014

- 3) Shinya Ohashi, Osamu Kikuchi, Mihoko Tsurumaki, Yukie Nakai, Daisuke Kuriyama, Hiroi Kasai, Takahiro Horimatsu, Shin'ichi Miyamoto, Akira Shimizu, Tsutomu Chiba, Manabu Muto. Preclinical validation of talaporfin sodium-mediated photodynamic therapy for esophageal squamous cell carcinoma. *PLOS ONE*. 9(8):e103126. 2014.
- 4) Yoko Mashimo, Yasumasa Ezoe, Kosuke Ueda, Yoshinao Ozaki, Yusuke Amanuma, Ikuo Aoyama, Takahiro Horimatsu, Shuko Morita, Shinichi Miyamoto, Tomonori Yano, Koji Higashino, Tsutomu Chiba, Manabu Muto. Salvage photodynamic therapy is an effective and safe treatment for patients with local failure after definitive chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer Therapy (JCT)*. 5(7):647-656. 2014.
- 5) Sakamoto N., Naito Y., Oue N., Sentani K., Uraoka N., Zarni Oo H., Yanagihara K., Aoyagi K., Sasaki H., Yasui W. MicroRNA-148a is downregulated in gastric cancer, targets MMP7, and indicates tumor invasiveness and poor prognosis. *Cancer Sci*. 2014
- 6) Maeda R., Ishii G., Neri S., Aoyagi K., Haga H., Sasaki H., Nagai K., Ochiai A. Circulating CD14+CD204+ cells predict postoperative recurrence in

- non-small-cell lung cancer patients. *J. Thorac. Oncol.* 2014
- 7) Kojima M., Higuchi Y., Yokota M., Ishii G., Saito N., Aoyagi K., Sasaki H., Ochiai A. Human subperitoneal fibroblast and cancer cell interaction creates microenvironment that enhances tumor progression and metastasis. *PLoS One.* 2014
  - 8) Oue N, Anami K, Schetter AJ, Moehler M, Okayama H, Khan MA, Bowman ED, Mueller A, Schad A, Shimomura M, Hinoi T, Aoyagi K, Sasaki H., Okajima M, Ohdan H, Galle PR, Yasui W, Harris CC. High miR-21 expression from FFPE tissues is associated with poor survival and response to adjuvant chemotherapy in colon cancer. *Int. J. Cancer.* 2014
  - 9) Tanabe S., Aoyagi K., Yokozaki H., Sasaki H. Gene expression signatures for identifying diffuse-type gastric cancer associated with epithelial-mesenchymal transition. *Int. J. Oncol.* 2014
  - 10) Oue N, Naito Y, Hayashi T, Takigahira M, Kawano-Nagatsuma A, Sentani K, Sakamoto N, Zarni Oo H, Uraoka N, Yanagihara K, Ochiai A, Sasaki H., Yasi W. Signal peptidase complex 18, encoded by SEC11A, contributes to progression via TGF- $\alpha$  secretion in gastric cancer. *Oncogene.* 2014
  - 11) Komatsu M, Sasaki H. DNA methylation is a key factor in understanding differentiation phenotype in esophageal squamous cell carcinoma. *Epigenomics.* 2014
  - 12) Tanabe S., Aoyagi K., Yokozaki H., Sasaki H. Gastric-related markers and their significance in cancer. *J. Med. Genomics Biomark.* 2014
  - 13) Kuwano H, Nishimura Y., Oyama T, Kato H, Kitagawa Y, Kusano M, Shimada H, Takiuchi H, Toh Y, Doki Y, Naomoto Y, Matsubara H, Miyazaki T, Muto M, Yanagisawa A. Guidelines for diagnosis and treatment of carcinoma of the esophagus April 2012 edited by the Japan Esophageal Society. *Esophagus* 12:1-30, 2015
  - 14) Ishikawa K, Nakamatsu K, Shiraishi O, Yasuda T, Nishimura Y. Clinical results of definitive-dose (50 Gy/25 fractions) preoperative chemo-radiotherapy for unresectable esophageal cancer. *Int J Clin Oncol (e-Pub)* 2014
  - 15) Tomoki Yamatsuji, Yasuhiro Fujiwara, Hideo Matsumoto, Shinji Hato, Tsutomu Namikawa, Kazuhiro Hanazaki, Munenori Takaoka, Jiro Hayashi, Kaori Shigemitsu, Kazuhiro Yoshida, Atsushi Urakami, Futoshi Uno, Masahiko Nishizaki, Shunsuke Kagawa, Motoki Ninomiya, Toshiyoshi Fujiwara, Toshihiro Hirai, Masafumi Nakamura, Minoru Haisa, Yoshio Naomoto. Feasibility of oral administration of S-1 as adjuvant chemotherapy in gastric cancer: 4-week S-1 administration followed by 2-week rest vs. 2-week administration followed by 1-week rest. *MOLECULAR AND CLINICAL ONCOLOGY.* 2015
  - 16) Hiroyuki Kuwano, Yasumasa Nishimura, Tsuneo Oyama, Hiroyuki Kato, Yuko Kitagawa, Motoyasu Kusano, Hideo Shimada, Hiroya Takiuchi, Yasushi Toh, Yuichiro Doki, Yoshio Naomoto, Hisahiro Matsubara, Tatsuya Miyazaki, Manabu Muto, Akio Yanagisawa. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Carcinoma of the Esophagus April 2012 edited by the Japan Esophageal Society. *Esophagus.* 2014



- 17) Kaori Shigemitsu, Naomasa Ishida, Yoko Hirabayashi, Munenori Takaoka, Jiro Hayashi, Takuya Fukazawa, Kazuhio Yoshida, Atsushi Urakami, Tomoki Yamatsuji, Kazutaka Nakashima, Ichiro Morita, Minoru Haisa, Yoshio Naomoto. A case report of isolated presacral squamous cell carcinoma developed four years after gastrectomy. *Kawasaki Medical Journal*. 2014
- 18) Nagai K, Ishihara R, Ishiguro S, Ohta T, Kanzaki H, Yamashina T, Aoi K, Matsuura N, Ito T, Fujii M, Yamamoto S, Hanaoka N, Takeuchi Y, Higashino K, Uedo N, Iishi H, Tatsuta M, Tomita Y, Matsunaga T. Endoscopic optical diagnosis provides high diagnostic accuracy of esophageal squamous cell carcinoma. *BMC Gastroenterol*. 2014
- 19) Ishihara R, Yamamoto S, Hanaoka N, Takeuchi Y, Higashino K, Uedo N, Iishi H. Endoscopic submucosal dissection for superficial Barrett's esophageal cancer in the Japanese state and perspective. *Ann Transl Med*. 2014
- 20) Kobayashi S, Kanai N, Ohki T, Takagi R, Yamaguchi N, Isomoto H, Kasai Y, Hosoi T, Nakao K, Eguchi S, Yamamoto M, Yamato M, Okano T. Prevention of esophageal strictures after endoscopic submucosal dissection. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 7;20(41):15098-109. 2014
- 21) Tomonori Yano, Ken Hatogai, Hiroyuki Morimoto, Yusuke Yoda, Kazuhiro Kaneko. Photodynamic therapy for esophageal cancer. *Ann Transl Med*. 2014
- 22) Katada N, Yamashita K, Katada C, Moriya H, Hosoda K, Mieno H, Higuchi K, Komori S, Ishiyama H, Hayakawa K, Sugawara M, Tanabe S, Koizumi W, Kikuchi S, Watanabe M. Neoadjuvant chemotherapy using concurrent Docetaxel/CDDP/5-FU (DCF) in esophageal squamous cell carcinoma and its short-term prognosis. *Esophagus*. 11(3): 173-181, 2014
- 23) Higuchi K, Komori S, Tanabe S, Katada C, Azuma M, Ishiyama H, Sasaki T, Ishido K, Katada N, Hayakawa K, Koizumi W. Definitive chemoradiotherapy with docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil (DCF-R) in advanced esophageal cancer: a phase II trial (KDOG 0501-P2). *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 89(4): 872-879, 2014
- 24) Sugawara M, Katada C, Komatsu T, Takahashi K, Azuma M, Higuchi K, Koizumi W, Atsuda K. Association between pharmacokinetic variables and neutropenia after treatment with docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Esophagus*. 2014 in press
- 25) 高岡 宗徳、繁光 薫、山辻 知樹、落合陽子、花崎 元彦、片山 浩、山根 弘路、猶本 良夫. 食道癌術後合併症に伴う血小板減少症に対し、ステロイド投与が奏効した症例. *ICUとCCU*. 2014
- 26) 門田智裕, 矢野友規, 小島隆嗣, 小野澤正勝, 宮本英明, 鳩貝健, 森本浩之, 大瀬良省三, 小田柿智之, 大野康寛, 池松弘朗, 金子和弘. 表面型表層拡大型食道癌の診断と治療戦略【表面型表層拡大型食道癌の治療成績 CRTの立場から. 胃と腸. 49:1206-1216, 2014
- 27) 矢野友規. 【食道内視鏡治療の最前線】狭窄に対する内視鏡治療:食道ステント. *医学のあゆみ*. 250:910-914, 2014
- 28) 吉田 啓紀, 細川 歩, 中田 直克, 鈴木庸弘, 南條 宗八, 植田 亮, 金辰彦, 三原 弘, 安藤 孝将, 藤浪 斗, 梶浦 新也,

- 西川 潤, 小川 浩平, 杉山 敏郎. DCF療法が奏効し根治的放射線療法で完全奏効が得られた進行食道がんの1例. 腫瘍内科, 13: 669-673, 2014
2. 学会発表
- 1) Osamu Kikuchi, Shinya Ohashi, Tomohisa Horibe, Masayuki Kohno, Manabu Muto, Koji Kawakami. Pivotal cytotoxic activity of EGFR-lytic hybrid peptide against 5-fluorouracil-resistant esophageal squamous cell carcinoma in vitro, Digestive Disease Week2014 (DDW2014), Chicago Illinois USA, May 4th 2014
  - 2) Yusuke Amanuma, Shinya Ohashi, Mihoko Tsurumaki, Yukie Nakai, Shin'ichi Miyamoto, Tsutomu Chibal, Hiroshi Nakagawa, Tomonari Matsuda, Manabu Muto. Induction of aldehyde dehydrogenase-2(Aldh-2) expression in esophageal epithelial cells suppresses the acetaldehyde-mediated DNA damage, Digestive Disease Week2014 (DDW2014), Chicago Illinois USA, May 4th 2014
  - 3) Kenichi Goda, Shuko Morita, Kazuhiro Kaneko, Mitsuru Kaise, Mototsugu Kato, Haruhiro Inoue, Shinya Kodashima, Yasumasa Niwa, Ryoji Miyahara, Junko Aida, Yukihiro Nakanishi, Kaiyo Takubo, Yasuo Ohkura, Masahiro Ikegami, Atsushi Ochiai, Tadakazu Shimoda, Kenichi Yoshimura, Manabu Muto. In Vivo Endocytoscopy for Superficial Esophageal Squamous Cell Carcinoma Multicenter Prospective Trial, Digestive Disease Week2014 (DDW2014), Chicago Illinois USA, 3rd-6th 2014
  - 4) Nishimura Y, Jingu K, Itasaka S, Negoro Y, Murakami Y, Karasawa K, Kawaguchi G, Isohashi F, Kobayashi M, Itoh Y, Ariga T. Clinical outcome of radiation therapy for esophageal cancer between 2004 and 2008: second survey. (Poster) the 56th Annual Meeting of the American Society for Radiation Oncology, San Francisco, USA Sept 14-17, 2014
  - 5) Ishikawa K, Tatebe H, Matsuura T, Tachibana I, Yokokawa M, Nakamatsu K, Kanamori S, Nishimura Y. Clinical results of definitive chemoradiation therapy for T4 esophageal cancer. (Poster) the 56th Annual Meeting of the American Society for Radiation Oncology, San Francisco, USA Sept 14-17, 2014
  - 6) Isomoto H, Yamaguchi N, Fukuda H, Nakao K, Kobayashi K, Kanetaka K, Eguchi S, Kanai N, Ohki T, Yamato M, and Okano T. Prevention of post-ESD stricture by steroid administration and endoscopic transplantation of tissue-engineered autologous oral mucosal epithelial cell sheets. International Digestive Endoscopy Network 2014, Seoul. May-14 2014
  - 7) Tomonori Yano, Ken Hatogai, Takashi Kojima, Yusuke Yoda, Hiroyuki Morimoto, Kazuhiro Kaneko. Salvage photodynamic therapy for patients with local failure after chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma, 口演The 34th American Society for Laser Medicine & Surgery Annual Conference. April 4rd-6th 2014
  - 8) Yokota T, Serizawa M, Hosokawa A, Kusafuka K, Mori K, Sugiyama T, Tsubosa Y, Koh Y. Molecular profiling of resected esophageal cancer and its correlation with clinical (Poster) American Society of Clinical Oncology, Chicago 2014
  - 9) 矢野 友規, 武藤 学, 食道癌化学放射線療法後の局所遺残再発例に対する光線力学療法 第35回日本レーザー医学会総会 シンポジウムII

- 消化器領域レーザー S2-1 京王プラザホテル  
第1会場 (2014年11月29日)
- 10) 三梨 桂子、武藤 学、佐々木 博己. 治療前生検の発現プロファイリングによる食道扁平上皮癌の内因性サブタイプの同定. 第56回日本消化器病学会大会 (JDDW2014) シンポジウム 20 消S20-2 神戸国際会議場 国際会議室 第13会場 (2014年10月26日)
- 11) 菊池 理、大橋 真也、堀部 智久、河野 雅之、武藤 学、川上 浩司. EGFR-lytic hybrid peptide の食道扁平上皮癌に対する in vitro での有効性と安全性. 第73回日本癌学会学術集会 P16-10 新規治療法 (抗体・ウイルス・ペプチド) P-3364. パシフィコ横浜 (2014年9月27日)
- 12) 青柳 一彦、三梨 桂子、小島 隆嗣、矢野 友規、玉置 将司、小松崎 理絵、千脇 史子、大津敦、吉田 輝彦、山田 康秀、武藤 学、佐々木 博己. 化学放射線療法の感受性が異なる食道がんサブタイプの発見. 第73回日本癌学会学術集会 J14-2 食道がんJ-1011 パシフィコ横浜 (2014年9月25日)
- 13) 小松将之、青柳一彦、三梨桂子、小島隆嗣、矢野友規、玉置将司、小松崎理絵、千脇史子、大津敦、吉田輝彦、武藤学、佐々木博己. 食道がんの化学放射線療法抵抗性サブタイプに特徴的な分子経路の解明. ポスター発表 第73回日本癌学会総会 パシフィコ横浜 (2014年9月)
- 14) 玉置将司、青柳一彦、三梨桂子、小島隆嗣、矢野友規、小松崎理絵、千脇史子、大津敦、吉田輝彦、武藤学、佐々木博己. 食道扁平上皮癌の化学放射線感受性に関連するがん抑制遺伝子SIM2の同定. ポスター発表 第73回日本癌学会総会 パシフィコ横浜 (2014年9月)
- 15) 小松崎理絵、千脇史子、玉置将司、青柳一彦、坂本裕美、渡辺寛、日月裕司、吉田輝彦、佐々木博己. 新薬開発推進のためのアジアがん100細胞株樹立およびオミックス解析プロジェクト (食道扁平上皮がんパネル). ポスター発表 第73回日本癌学会総会 パシフィコ横浜 (2014年9月)
- 16) 千脇史子、坂本裕美、市川仁、青柳一彦、小松崎理絵、濱口哲弥、山田康秀、島田安博、柳原五吉、松崎圭祐、吉田輝彦、佐々木博己. 新薬開発推進のためのアジアがん100細胞株樹立およびオミックス解析プロジェクト (未分化型胃癌パネル) ポスター発表第73回日本癌学会総会 パシフィコ横浜 (2014年9月)
- 17) 佐々木博己、三梨桂子、青柳一彦、玉置将司、小島隆嗣、矢野友規、加藤健、山田康秀、大津敦、武藤学. 食道がんの内因性サブタイプの同定とオーダーメイド医療. 第12回日本臨床腫瘍学会、ワークショップ (2014年7月)
- 18) 青山 育雄、鶴巻美穂子、中井由起恵、天沼 祐介、菊池 理、大橋 真也、横山 顕礼、森田 周子、武藤 学. 呼吸を利用した食道癌のリスク判別法の開発. 第68回日本食道学会学術集会 一般演題 ポスター56-1「要望演題 食道癌 スクリーニング」第4会場 (オーロラ) 東京ドームホテル (2014年7月4日)
- 19) 大橋 真也、天沼 祐介、鶴巻美穂子、中井由起恵、菊池 理、宮本 心一、千葉 勉、松田知成、武藤 学. 食道上皮におけるALDH2発現誘導アセトアルデヒドに起因する食道上皮傷害を制御する. 第68回日本食道学会学術集会 一般演題 ポスター38-1「実験1」第5会場 (シニア) 東京ドームホテル (2014年7月3日)
- 20) 菊池 理、大橋 真也、中井由起恵、天沼 祐介、江副 康正、宮本 心一、武藤 学. DPDの高発現を伴った5-FU耐性食道扁平上皮癌細胞株の樹立. 第68回日本食道学会学術集会 一般演題 ポスター29-2「分子生物2」第4会場 (オーロラ) 東京ドームホテル (2014年7月3日)
- 21) 佐伯宣久、小野弘恵、青柳一彦、佐々木博己、柳原五吉、坂本裕美、吉田輝彦. 一塩

- 基多型rs2294008のTアレルは転写因子YY1を介して、がん抑制機能を持つPSCA遺伝子の発現を抑制し、胃がん易罹患性の原因となる。第37回日本分子生物学会。(2014年11月)
- 22) 原田佳織、山崎敏正、飯田緑、藤井聡、青柳一彦、山田康秀、佐々木博己。遺伝子発現データに基づく大腸がんサブタイプ探索～教師なし学習法～。口頭発表 第66回日本工学会 (2014年9月)
- 23) 山辻知樹、石田尚正、平林葉子、高岡宗徳、深澤拓也、林次郎、繁光薫、吉田和弘、浦上淳、中島一毅、森田一郎、羽井佐実、末廣満彦、河本博文、猶本良夫。食道癌術後再建胃管癌症例の検討 (ポスター) 第87回日本胃癌学会総会 (2015年3月6日)
- 24) 山辻知樹、谷口美季、磯田竜太郎、石田尚正、平林葉子、高岡宗徳、深澤拓也、林次郎、繁光薫、浦上淳、吉田和弘、中島一毅、森田一郎、羽井佐実、猶本良夫。超音波内視鏡下針生検にて診断し得た食道神経鞘腫の2切除例 (ポスター) 第76回日本臨床外科学会総会 (2014年11月20日)
- 25) 繁光薫、磯田竜太郎、石田尚正、平林葉子、高岡宗徳、深澤拓也、林次郎、吉田和弘、浦上淳、中島一毅、山辻知樹、羽井佐実、森田一郎、猶本良夫。待機的食道胃管吻合の効用と工夫 (口頭) 第76回日本臨床外科学会総会 (2014年11月20日)
- 26) 山辻知樹、磯田竜太郎、石田尚正、平林葉子、高岡宗徳、深澤拓也、林次郎、繁光薫、吉田和弘、浦上淳、中島一毅、森田一郎、羽井佐実、白川靖博、猶本良夫。食道癌転移診断におけるPET-CT偽陽性症例の検討 (ポスター) 第52回日本癌治療学会学術集会 (2014年8月28日)
- 27) 山辻知樹、石田尚正、高岡宗徳、林次郎、繁光薫、浦上淳、吉田和弘、白川靖博、羽井佐実、猶本良夫。パラチノースを糖質源とした経腸栄養剤MHN-01/02を用いた食道癌周術期栄養管理 (口頭) 第69回日本消化器外科学会総会 (2014年7月18日)
- 28) 繁光薫、石田尚正、高岡宗徳、林次郎、吉田和弘、浦上淳、山辻知樹、羽井佐実、猶本良夫。後縦隔経路再建胃管に発生した胃管癌に対する低侵襲手術術式における工夫 (口頭) 第69回日本消化器外科学会総会 (2014年7月16日)
- 29) 山辻知樹、石田尚正、高岡宗徳、繁光薫、羽井佐実、猶本良夫。食道癌術後リンパ節再発に対する強度変調放射線治療IMRTとサルベージリンパ節郭清術 (ポスター) 第68回日本食道学会学術集会 (2014年7月4日)
- 30) 高岡宗徳、吉田和弘、石田尚正、平林葉子、林次郎、繁光薫、浦上淳、山辻知樹、羽井佐実、猶本良夫。大腸癌術前に偶然発見され、同時切除した頸胸境界部食道神経鞘腫の1例 (ポスター) 第68回日本食道学会学術集会 (2014年7月3日)
- 31) 羽井佐実、酒井亮、光岡晋太郎、高岡宗徳、繁光薫、林次郎、浦上淳、吉田和弘、山辻知樹、猶本良夫。一般総合病院での食道癌手術治療についての考察 (ポスター) 第68回日本食道学会学術集会 (2014年7月3日)
- 32) 繁光薫、高岡宗徳、山辻知樹、羽井佐実、猶本良夫。胸三角皮弁を用いて修復を行った食道癌術後食道胃管吻合部気管瘻の1例 (ポスター) 第68回日本食道学会学術集会 (2014年7月3日)
- 33) 山辻知樹、磯田竜太郎、石田尚正、平林葉子、高岡宗徳、深澤拓也、林次郎、繁光薫、吉田和弘、浦上淳、中島一毅、森田一郎、羽井佐実、猶本良夫。食道癌肉腫の2切除例 (口頭) 第57回関西胸部外科学会学術集会 (2014年6月20日)
- 34) 繁光薫、高岡宗徳、山辻知樹、中島一毅、

- 羽井佐実, 猶本良夫. 左側臥位胸腔鏡下食道切除における胸管温存の手技 (要望ビデオセッション) 第57回関西胸部外科学会学術集会(2014年6月19日)
- 35) 羽井佐実, 石田尚正, 平林葉子, 高岡宗徳, 林次郎, 深澤拓也, 繁光薫, 浦上淳, 吉田和弘, 山辻知樹, 中島一毅, 森田一郎, 酒井亮, 光岡晋太郎, 猶本良夫. 早期胃癌食道癌同時性重複癌の手術戦略 (ポスター) 第114回日本外科学会定期学術集会(2014年4月5日)
- 36) 山辻知樹, 磯田竜太郎, 田村卓也, 石田尚正, 平林葉子, 高岡宗徳, 深澤拓也, 林次郎, 繁光薫, 浦上淳, 吉田和弘, 中島一毅, 森田一郎, 羽井佐実, 猶本良夫. 免疫調整流動食MHN-02を用いた食道癌周術期栄養管理 (ポスター) 第114回日本外科学会定期学術集会(2014年4月4日)
- 37) 山本 幸子, 矢野 雅彦, 石原 立. 化学放射線療法を用いた食道がん治療の新展開 StageI食道癌に対する根治的放射線療法の効果 手術との比較検討. 神戸国際会議場 (2014年10月)
- 38) 堅田親利, 小森承子, 片田夏也. ケモセレクションに基づいた個別化医療の臨床試験 - CROC試験 - パネルディスカッション 日本放射線腫瘍学会第27回学術大会 (2014年12月11日)
- 39) 堅田親利, 小森承子, 片田夏也. Organ preservation strategyとしての導入化学療法後の化学放射線療法の実施可能性. JDDW2014「化学放射線療法を用いた食道がん治療の新展開」シンポジウム JDDW2014, 神戸国際会議場 (2014年10月26日)
- 40) 中西宏佳, 太田亮介, 大村仁志, 竹田康人, 辻国広, 富永桂, 吉田尚弘, 松永和大, 辻重継, 竹村健一, 山田真也, 岡田俊英, 土山寿志. 80歳以上の超高齢者に対する食道扁平上皮癌ESDの治療成績と予後の検討. 第100回日本消化器内視鏡学会北陸地方会 (2014年11月)
- 41) 竹村健一, 太田亮介, 大村仁志, 竹田康人, 中西宏佳, 辻国広, 富永桂, 吉田尚弘, 松永和大, 辻重継, 山田真也, 岡田俊英, 土山寿志. 悪性食道狭窄に対するステント留置の成績. 第103回日本消化器内視鏡学会北陸地方会 (2014年6月)
- 42) 太田亮介, 朝日向良朗, 土山寿志. 食道・胃ESDにおける静脈麻酔の術中および術後合併症の検討. 第87回日本消化器内視鏡学会総会 (2014年5月)
- 43) 竹村健一, 太田亮介, 竹田康人, 中西宏佳, 辻国広, 富永桂, 吉田尚弘, 辻重継, 山田真也, 土山寿志. 当科における食道癌悪性狭窄に対するステント留置の成績. 第15回北陸食道疾患懇話会 (2014年4月)
- 44) 竹村健一, 山田真也, 土山寿志. 病変部位別にみた食道ESD術後狭窄についての検討. 第100回日本消化器病学会総会 (2014年4月)
- H. 知的財産の出願・登録状況
1. 特許取得
- 1) 発明の名称:扁平上皮がんに対する化学放射線療法の有効性を評価するための方法  
出願番号: 特願2014-194379  
出願日: 平成26年9月24日  
発明者: 佐々木博己、青柳一彦、武藤学  
出願人: 独立行政法人国立がん研究センター、国立大学法人京都大学、大塚製薬株式会社  
内容: 遺伝子の発現プロファイルから扁平上皮がんの化学放射線療法に感受性、非感受性のサブタイプを治療開始前の検体で予知する方法の発明
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## II. 委託業務成果報告書(業務項目)

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告書（業務項目）

プロジェクトの総合推進  
生体試料回収に関する体制整備  
多施設共同研究の実施  
多施設共同研究に関する検討会の実施  
食道癌遺伝子サブタイプ体外診断薬の開発

業務主任者 武藤 学 京都大学大学院医学研究科 腫瘍薬物治療学講座 教授

研究要旨

本研究では、難治性がんである食道がんに対する革新的バイオマーカー開発を目的として、食道がん患者の治療前内視鏡検査時に、病変部から採取した生検組織からRNAを抽出して遺伝子発現解析を行い、その遺伝子発現パターンに基づいて食道がんの「サブタイプ分類」の検証を多施設共同研究として実施する。参加施設は10施設で、300例の登録を目標とする。また、これまでの我々の研究から、化学放射線療法が奏効し長期の無再発生存症例を期待できるサブタイプ群を同定しており、今回の試験においても、治療成績との相関を検討する。本研究成果により、食道がんの初回治療法選択時により効果の期待出来る治療が選択できる可能性があり、食道がんの予後向上に大きく貢献することが期待できる。本研究計画の1年目にあたる今年度においては、臨床研究を遂行するための体制整備の確立が急務であったが、その体制整備は計画通り遂行することができた。

A. 研究目的

厚生労働省が掲げる「癌患者の5年生存率を20%向上させる」目標の実現には、最適な治療を初期治療から実施する必要があるが、一部の分子標的薬剤を除けば、どの患者にどの治療が最適かを個別に見極めることはできていない。本研究は、治療前に内視鏡下生検した食道がん組織の遺伝子発現をプロファイリングし、その結果に基づき食道癌のサブタイプ分類を行うことを主たる目的とともに、サブタイプ分類した患者群の、化学放射線療法、外科治療に対する治療効果を検討し、より根治性の高い個別化医療を実現するための革新的バイオマーカー開発を目指す。

B. 研究方法

本試験は、新規に食道がんと診断された患者の治療前内視鏡下生検組織（腫瘍組織）を用いて、multiplex RT-PCRやカスタムDNAチップ等により治療感受性サブタイプを同定し、ガイドラインに従った治療、または患者が希望して受けた治療の効果を多施設において検証する前向きコホート研究である。なお本試験は、サブタイプ分類の再現性と治療効果の相関をみるのが目的であり、治療感受性サブタイプによる治療法の振り分けなどの治療介入は行わない。

(1) 治療前の上部消化管内視鏡検査で、腫瘍組織より通常の生検鉗子で2mm角程度の組織を2個採取し、RNA安定化剤の入った検体保

存用専用チューブに入れて保管する。その際、RNA安定化剤が十分に組織に浸透するまでは室温保存し、その後冷蔵または冷凍保存する。詳細は別途定める検体採取および搬送に関する手順書に従う。

- (2) 各実施医療機関で収集した生検組織は委託臨床検査会社により運搬され、同検査会社でRNA抽出を行う。抽出されたRNAは、一定期間同検査会社で $-80^{\circ}\text{C}$ に保管した後、国立がん研究センター研究所および京都大学医学部附属病院へ搬送され、遺伝子発現解析を行う。
- (3) 被験者の臨床情報は、各実施医療機関の担当医が追跡調査票に記入し、郵送にてデータセンター（京都大学医学部附属病院臨床研究総合センターデータサイエンス部）に送付する。

#### 【対象患者および目標症例数】

前治療歴のない新規食道癌症例300例。

#### 【選択基準】

- 1) 食道癌と新規に診断され、根治的に外科的手術、RTまたはCRTを施行する予定の患者。（扁平上皮癌以外の組織型（腺癌、小細胞癌など）であることが判明している症例や、明らかに内視鏡的治療になると判断される症例は含めない。）
- 2) 同意取得時の年齢が20歳以上である。
- 3) 試験参加について、被験者本人から文書による同意が得られている。

#### 【観察項目】

- (1) 患者背景  
登録時：年齢、性別、Performance Status (ECOG)、原発部位、組織型、転移の有無とその部位、TNM分類（ただし、Tは食道癌取扱い規約第10版、NとMはTNM分類第7版に従う）  
初回治療開始1年後：初回治療内容、初回治療レジメン

- (2) 遺伝子発現プロファイルに基づくサブタイプ

内視鏡下生検組織から採取したRNAを用いて、multiplex RT-PCRやカスタムDNAチップ等の検査法によりサブタイプ分類を行う。

- (3) 後治療  
初回治療後に施行された治療を後治療として追跡調査票に記入する。
- (4) 転帰  
初回治療開始1年後の転帰を確認し、上部消化管内視鏡検査、CT検査により遺残・再発の有無を判定する。

#### （倫理面への配慮）

本研究に関係する全ての研究者は「疫学研究に関する倫理指針（平成25年4月1日一部改正）」「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成25年2月8日全部改正）」「世界医師会ヘルシンキ宣言（2013年フォルタレザ改正）」「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン（平成22年9月17日改正）」に従って本登録を実施し、被験者の人権保護に努める。

#### C. 研究結果

本研究は、すでに「生体試料を用いた食道がん治療効果予測マーカーの探索的研究（多施設研究）」として京都大学医学部附属病院医の倫理委員会ですでに承認されていたが、本研究費採択に伴い、参加施設、データセンター、検体搬送などの面から、全面的に見直しを行い、以下の点を修正した。

- 1) データセンター：当初、外部CROに委託する予定であったが、遺伝子情報管理とデータの信頼性確保のため、京都大学医学部附属病院臨床研究総合センターデータサイエンス部が、データ管理、統計処理を行うこととした。



- 2) 目標症例数は、より精度を高めるため、当初予定していた100例から300例に増やした。

平成26年10月31日に、本研究の共同研究を遂行する各施設の代表者が集まり、試験内容について討議する班会議を行った。研究計画書「生体試料からの遺伝子発現プロファイルを用いた食道がんサブタイプ分類と治療効果との関連に関する臨床評価試験」の最終版は、全参加施設およびデータセンターによるレビューを行い、平成26年12月17日に京都大学医学部附属病院医の倫理委員会に新たに提出した。平成27年1月15日に、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院の医の倫理委員会でも本臨床を施行するための倫理的遵守事項の審査を受け承認された(承認番号G696)。検体の採取、回収、及び本研究のマネジメントを行う人員確保など、実施体制の整備を行い京都大学医学部附属病院では2015年3月より登録を開始した。

また、収集したRNAを用いて、マイクロアレイ解析ではない方法として、次世代シーケンサーによるサブタイプ分類も検討するため、実施体制を構築した。

#### D. 考察

食道がんにおける遺伝子発現解析によるサブタイプ分類を検証する多施設共同試験の実施体制を整備し、試験開始をすることができた。1年半で300例の症例登録を目標としているため、今後、参加全施設での倫理委員会承認を目指すとともに、症例集積を加速させる必要がある。

#### E. 結論

本研究では、内視鏡下に生検した食道がん組織の遺伝子発現をプロファイリングし、その結果に基づき食道癌のサブタイプ分類を行う多施設共同研究を開始することができた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Katada C, Muto M, Tanabe S, Higuchi K, Sasaki T, Azuma M, Ishido K, Katada N, Sakuramoto S, Yamashita K, Masaki T, Nakayama M, Okamoto M, Koizumi W. Factors associated with the presence of multiple Lugol-voiding lesions in patients with esophageal squamous-cell carcinoma. *Dis Esophagus*. 2014 Jul;27(5):457-62.
- 2) Yoshiyuki Yukawa, Shinya Ohashi, Yusuke Amanuma, Yukie Nakai, Mihoko Tsurumaki, Osamu Kikuchi, Shin'ichi Miyamoto, Tsunehiro Oyama, Toshihiro Kawamoto, Tsutomu Chiba, Tomonari Matsuda, Manabu Muto. Impairment of aldehyde dehydrogenase 2 increases accumulation of acetaldehyde-derived DNA damage in the esophagus after ethanol ingestion. *Am J Cancer Res*. 4(3):279-284. 2014
- 3) Shinya Ohashi, Osamu Kikuchi, Mihoko Tsurumaki, Yukie Nakai, Daisuke Kuriyama, Hiroi Kasai, Takahiro Horimatsu, Shin'ichi Miyamoto, Akira Shimizu, Tsutomu Chiba, Manabu Muto, Preclinical validation of talaporfin sodium-mediated photodynamic therapy for esophageal squamous cell carcinoma. *PLOS ONE*. 9(8):e103126. 2014.
- 4) Yoko Mashimo, Yasumasa Ezo, Kosuke Ueda, Yoshinao Ozaki, Yusuke Amanuma, Ikuo Aoyama, Takahiro Horimatsu, Shuko Morita, Shinichi Miyamoto, Tomonori Yano, Koji Higashino, Tsutomu Chiba, Manabu Muto. Salvage photodynamic therapy is an effective and safe treatment for patients with local failure after definitive chemoradiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer Therapy (JCT)*. 5(7):647-656. 2014.

2. 学会発表
- 1) Osamu Kikuchi, Shinya Ohashi, Tomohisa Horibe, Masayuki Kohno, Manabu Muto, Koji Kawakami. Pivotal cytotoxic activity of EGFR-lytic hybrid peptide against 5-fluorouracil-resistant esophageal squamous cell carcinoma in vitro, Digestive Disease Week2014 (DDW2014), Chicago Illinois USA, May 4th 2014
  - 2) Yusuke Amanuma, Shinya Ohashi, Mihoko Tsurumaki, Yukie Nakai, Shin'ichi Miyamoto, Tsutomu Chiba1, Hiroshi Nakagawa, Tomonari Matsuda, Manabu Muto. Induction of aldehyde dehydrogenase-2 (Aldh-2) expression in esophageal epithelial cells suppresses the acetaldehyde-mediated DNA damage, Digestive Disease Week2014 (DDW2014), Chicago Illinois USA, May 4th 2014
  - 3) Kenichi Goda, Shuko Morita, Kazuhiro Kaneko, Mitsuru Kaise, Mototsugu Kato, Haruhiro Inoue, Shinya Kodashima, Yasumasa Niwa, Ryoji Miyahara, Junko Aida, Yukihiro Nakanishi, Kaiyo Takubo, Yasuo Ohkura, Masahiro Ikegami, Atsushi Ochiai, Tadakazu Shimoda, Kenichi Yoshimura, Manabu Muto. In Vivo Endocytoscopy for Superficial Esophageal Squamous Cell Carcinoma Multicenter Prospective Trial, Digestive Disease Week2014 (DDW2014), Chicago Illinois USA, 3rd-6th 2014
  - 4) 矢野 友規、武藤 学、食道癌化学放射線療法後の局所遺残再発例に対する光線力学療法  
第35回日本レーザー医学会総会 シンポジウムII  
消化器領域レーザー S2-1 京王プラザホテル  
第1会場 (2014年11月29日)
  - 5) 三梨 桂子、武藤 学、佐々木 博己. 治療前生検の発現プロファイリングによる食道扁平上皮癌の内因性サブタイプの同定. 第56回日本消化器病学会大会 (JDDW2014) シンポジウム  
20 消S20-2 神戸国際会議場 国際会議室  
第13会場 (2014年10月26日)
  - 6) 菊池 理、大橋 真也、堀部 智久、河野 雅之、武藤 学、川上 浩司. EGFR-lytic hybrid peptide の食道扁平上皮癌に対する in vitro での有効性と安全性. 第73回日本癌学会学術集会 P16-10 新規治療法 (抗体・ウィルス・ペプチド) P-3364. パシフィコ横浜 (2014年9月27日)
  - 7) 青柳 一彦、三梨 桂子、小島 隆嗣、矢野 友規、玉置 将司、小松崎 理絵、千脇 史子、大津敦、吉田 輝彦、山田 康秀、武藤 学、佐々木 博己. 化学放射線療法の感受性が異なる食道がんサブタイプの発見. 第73回日本癌学会学術集会 J14-2 食道がんJ-1011 パシフィコ横浜 (2014年9月25日)
  - 8) 小松将之、青柳一彦、三梨桂子、小島隆嗣、矢野友規、玉置将司、小松崎理絵、千脇史子、大津敦、吉田輝彦、武藤学、佐々木博己. 食道がんの化学放射線療法抵抗性サブタイプに特徴的な分子経路の解明. ポスター発表 第73回日本癌学会総会 パシフィコ横浜 (2014年9月)
  - 9) 玉置将司、青柳一彦、三梨桂子、小島隆嗣、矢野友規、小松崎理絵、千脇史子、大津敦、吉田輝彦、武藤学、佐々木博己. 食道扁平上皮癌の化学放射線感受性に関連するがん抑制遺伝子SIM2の同定. ポスター発表 第73回日本癌学会総会 パシフィコ横浜 (2014年9月)
  - 10) 青山 育雄、鶴巻美穂子、中井由起恵、天沼 祐介、菊池 理、大橋 真也、横山 顕礼、森田 周子、武藤 学. 呼吸を利用した食道癌のリスク判別法の開発. 第68回日本食道学会学術集会 一般演題 ポスター56-1「要望演題 食道癌 スクリーニング」第4会場 (オーロラ) 東京ドームホテル (2014年7月4日)

- 11) 大橋 真也、天沼 祐介、鶴巻美穂子、中井由起恵、菊池 理、宮本 心一、千葉 勉、松田知成、武藤 学、食道上皮におけるALDH2発現誘導アセトアルデヒドに起因する食道上皮傷害を制御する。第68回日本食道学会学術集会一般演題 ポスター38-1「実験1」第5会場（シンシア）東京ドームホテル（2014年7月3日）
- 12) 菊池 理、大橋 真也、中井由起恵、天沼 祐介、江副 康正、宮本 心一、武藤 学、DPDの高発現を伴った5-FU耐性食道扁平上皮上皮癌細胞株の樹立。第68回日本食道学会学術集会 一般演題 ポスター29-2「分子生物2」第4会場（オーロラ）東京ドームホテル（2014年7月3日）

## G. 知的財産の出願・登録状況

### 1. 特許取得

発明の名称: 扁平上皮がんに対する化学放射線療法の有効性を評価するための方法

出願番号: 特願2014-194379

出願日: 平成26年9月24日

発明者: 佐々木博己、青柳一彦、武藤学

出願人: 独立行政法人国立がん研究センター、国立大学法人京都大学、大塚製薬株式会社

内容: 遺伝子の発現プロファイルから扁平上皮がんの化学放射線療法に感受性、非感受性のサブタイプを治療開始前の検体で予知する方法の発明

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告書（業務項目）

食道癌化学放射線療法感受性に関わる遺伝子セットの評価  
多施設共同研究の実施  
食道癌遺伝子サブタイプ体外診断薬の開発  
食道癌化学放射線療法感受性および抵抗性に関わる要因の解明

担当責任者 佐々木 博己 国立がん研究センター研究所 バイオマーカー探索部門 部門長

研究要旨

先行する研究において、局所進行食道扁平上皮がん274症例の治療前生検試料を治療開始時期で107例と167例の独立した2つのセットに分け、遺伝子発現プロファイルを基にした教師無しクラスター解析を行い、5種の内因性サブタイプ（E, M1, M2, I, 3b）を同定した。M2タイプは根治的放射線化学療法（CRT）での5年生存率が全体で24%であったのに対し、Eタイプの5年生存率は74%であることを示した。両サブタイプは外科的切除や術前化学療法では予後に有意な差は認められなかった。これらの結果を受けて、H26年度には製薬企業と特許を出願した（特願2014-194379）。このクラスター解析で用いた遺伝子は、CRT高感受性Eタイプでは191種、低感受性M2タイプでは121種であった。次世代シーケンサーや定量的RT-PCRによる実用化を目指し、両サブタイプで特異的に発現する転写因子と共発現している遺伝子を相関係数が高い順に上位50種に絞り込み、再びクラスター解析を行った結果、両サブタイプとも、先行研究で用いた遺伝子で分けた検体の96%、68/71（Eタイプ）、95%、82/84（M2タイプ）が同様に分類できた。

A. 研究目的

これまで実施した274例の治療前食道扁平上皮がん生検のマイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析によって明らかにした化学放射線療法の感受性・非感受性サブタイプを分類するため、遺伝子を絞り込み、診断機器として既に登録（予定）されている装置を用いた検査法を開発、その有効性を多施設研究において実証する。

B. 研究方法

先行研究と先行特許明細書「扁平上皮がん

に対する化学放射線療法の有効性を評価するための方法」（特願2014-194379）に明記されるCRT感受性Eタイプ（上皮形質）を分類可能な数100種のマーカー遺伝子リストの中から生物統計学的方法によって遺伝子を絞り込み、次世代シーケンサーやmultiplex RT-PCRによる診断の実用化開発を行う。

（倫理面への配慮）

本研究は体細胞遺伝子発現・構造を解析し、日常診療の経過を観察する研究のため、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠し、かつ「疫学研究に関する倫理指針」を