

Title	Reduced MLH1 Expression after Chemotherapy Is an Indicator for Poor Prognosis in Esophageal Cancers.
Author(s)	岸, 健太郎
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45526
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	岸 健太郎
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19046 号
学位授与年月日	平成 16 年 10 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Reduced MLH1 Expression after Chemotherapy Is an Indicator for Poor Prognosis in Esophageal Cancers. (食道癌化学療法後の MLH1 発現変化とその臨床的意義)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人 (副査) 教授 野口眞三郎 教授 青笹 克之

論文内容の要旨

目的：進行食道扁平上皮癌に対する術前化学療法＋外科手術は有力な治療戦略のひとつである。しかし、化学療法抵抗性腫瘍においては、肉眼的腫瘍を外科切除しても微小転移が遺残し、遠隔再発を来すことが課題の一つである。ミスマッチ修復機構 (MMR system) は損傷を受けた DNA を修復するだけでなく、修復限界を超えた場合、アポトーシスを誘導する checkpoint としても働いている。近年、MMR system の異常が抗癌剤抵抗性に関与すると報告されており、これには修復機能よりむしろ checkpoint 機能が関係する、つまり抗癌剤で DNA 損傷を受けても checkpoint の障害で癌細胞はアポトーシスを起こさないと想定されている。MLH1 は MMR system の主な構成分子の一つでその遺伝子異常は大腸癌などで高頻度に見られマイクロサテライト不安定性をもたらす発癌に関係することが知られている。一方抗癌剤感受性に関しては、MLH1 の異常は CDDP や ADM などのアルキル化剤の薬剤抵抗性と関係すること、さらに化学療法後に MLH1 の消失が高頻度に出現することが報告されている。このことは、癌細胞における MLH1 の異常 (発現消失) が化学療法中に誘導され、その結果薬剤抵抗性の獲得を促進するという可能性を示している。そこで本研究では、食道癌における MLH1 の発現と化学療法の関連性およびその臨床的意義について検討した。さらに、重要な checkpoint 蛋白の一つである P53 について MLH1 との比較、関連性についても検討した。

方法：

1) 免疫染色

術前未治療の根治切除 43 例 (未治療群) と CDDP、5-FU、ADM を用いた術前化学療法施行後の根治切除 107 例 (術前治療群) を対象に手術切除標本の癌組織のホルマリン固定パラフィンブロックを用い、免疫組織学染色をおこなった。また、後者のうちの 20 例については化学療法前の内視鏡生検標本の免疫組織学染色も併施した。

免疫組織学染色は 95℃、15 分の温浴による抗原賦活化を行った後、ABC 法で、一次抗体として抗ヒト MLH1 モノクローナル抗体 (PharMingen 社)、抗ヒト P53 モノクローナル抗体 (Novocastra Laboratories 社) を用いて行った。

染色性の評価は、MLH1 に関しては癌細胞の 50%以上が染色される症例を高発現、50%未満を低発現とし、P53 に関しては癌細胞の 10%以上が染色される症例を陽性、10%未満を陰性とした。そして MLH1、P53 の発現性と臨

床病理学的諸因子との関連を比較した。

2) Western blot

新鮮手術標本の正常組織と癌組織より蛋白を抽出し、MLH1抗体を用いてWestern blotを行った。

成績：

1) 未治療群におけるMLH1発現：非癌部食道扁平上皮において、MLH1は傍基底層の核に強く発現した。癌細胞においても核に発現を認めたが、コロニー全体や、コロニー中心部においてMLH1発現の減弱した症例が散見され、14% (6/43)がMLH1低発現に分類された。免疫染色とWestern blotにおけるMLH1の発現は一致した。未治療群においてMLH1の発現は、臨床病理学的因子、予後と関連しなかった。

2) 化学療法によるMLH1発現の変化：術前化療群の切除標本におけるMLH1低発現は34% (40/107)で未治療群に比して有意に高頻度であった ($P=0.0057$)。術前化療群で化療前生検と化療後切除標本でMLH1発現を比較すると、変化しない症例が60% (12/20) (高発現11例、低発現1例)、高発現から低発現に減弱した症例が40% (8/20)であったが、低発現から高発現に増強した症例は存在せず0% (0/20)、化学療法後にMLH1発現は有意な減少を示した ($p=0.0078$)。

3) 術前化療群におけるMLH1減弱の意義：切除標本において術前化療群MLH1低発現例は化学療法の臨床的効果に無効例が多い傾向が見られるものの有意差はなく、他の臨床病理学的因子とも有意な関連はなかった。しかし、MLH1低発現例は5年生存率19.3%、高発現例は40.6%とMLH1低発現例は有意に予後不良であった ($p=0.0393$)。多変量解析ではMLH1低発現はリンパ節転移 ($RR=2.815$, $p=0.0191$)、臨床的化学療法効果 ($RR=2.281$, $p=0.0119$)について独立した予後規定因子であった ($RR=2.020$, $p=0.0178$)。

4) P53の関与：P53陽性は70%に見られたが、P53とMLH1発現およびMLH1発現の変化との間に関連は認められなかった。P53陽性例では予後不良の傾向を認めたが有意ではなかった。

総括： 進行食道癌において、術前化学療法 (CDDP、5-FU、ADM) 施行後にMLH1発現が正常から異常 (減弱) に変化する症例が高頻度に観察され、それらは根治手術にも関わらず予後不良であった。MLH1発現減弱例では化学療法中に抵抗性を獲得し外科手術の効果が十分に得られないと考えられる。今後、MLH1発現性は治療戦略を組み立てる上で有用な情報となる可能性がある。

論文審査の結果の要旨

進行食道癌に対する術前化学療法は有力な集学的治療であるが、その治療成績は化学療法の感受性に大きく依存している。抗癌剤によるDNA損傷はチェックポイントの活性化によりアポトーシスを誘導するが、癌細胞ではしばしばチェックポイントの異常により化学療法抵抗性を獲得している。アルキル化剤やCDDPによるDNA adductに対してはミスマッチ修復機構がチェックポイントとして機能しており、その構成分子であるMLH1の異常はCDDP抵抗性と関係することが知られている。現在食道癌に対する化学療法のkey drugはCDDP、5FUであるが、MLH1の異常と化学療法効果の検討は報告されていない。本研究は、進行食道癌術前化学療法症例、術前未治療症例を用いた免疫組織学的検討で、以下の結果を得た。1) 術前未治療の進行食道癌の殆どでは、MLH1の発現は正常であるがCDDP併用術前化学療法群では発現低下症例が34%と高頻度に出現した。2) 同一症例における化学療法前後の検討でMLH1高発現症例の40%に化学療法後発現低下がみられた。3) 術前未治療症例ではMLH1の発現による術後生存率の差を認めなかったが、術前化学療法症例では化学療法後MLH1低発現群で術後5年生存率が19.3%と高発現群の40.6%に比し有意に予後不良であった。化学療法後のMLH1発現はリンパ節転移、臨床的効果に次ぐ独立予後因子であった。本研究ではMLH1の発現低下が食道癌化学療法中に生じる生物学的悪性度因子の一つであることを示しており、従来の画一的CDDP中心の化学療法から生物学的特性に応じた個別化治療への変換を示唆する重要なものである。従って学位の授与に値すると考えられる。