

大腸癌肝転移に対する術前化学療法： NQO1 発現を用いた治療効果予測の可能性

相 馬 大 輝

新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野（第一外科）
（指導：若井俊文教授）

Preoperative Chemotherapy for Colorectal Carcinoma Liver Metastasis: Impact of NQO1 Expression on Prediction of Therapeutic Effect

Daiki SOMA

*Division of Digestive and General Surgery, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences
(Director: Prof. Toshifumi WAKAI)*

要 旨

【緒言】近年の大腸癌に対する化学療法の進歩を背景として大腸癌肝転移に対して術前化学療法を実施する機会が増えつつあり、大腸癌肝転移に対する術前化学療法の治療効果を予測することは臨床上、重要な課題となっている。抗酸化ストレス蛋白である NAD (P) H : quinone oxidoreductase-1 (NQO1) は種々の癌腫で化学療法に対する感受性との関連が示唆されている。本研究では、NQO1 発現が大腸癌肝転移に対する術前化学療法の治療効果予測因子となり得るか否かを評価する。

【対象と方法】当科で術前化学療法実施後に初回肝切除が施行された大腸癌肝転移 23 例を対象とした。術前化学療法の治療効果は、肝切除前に RECIST (version 1.1) で判定するとともに、切除標本で大腸癌取扱い規約第 8 版に従って組織学的に判定した。NQO1 発現の有無は、切除標本で NQO1 モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学を行うことで同定した。肝転移巣の腫瘍細胞が NQO1 発現陰性を示す場合、同一標本内の非腫瘍性大型胆管上皮細胞も NQO1 発現陰性であれば NQO1 遺伝子多型ありと判定した。

【結果】23 例における術前化学療法の RECIST による治療効果判定は、PR (Partial Response : 部分奏効) が 14 例、SD (Stable Disease : 安定) が 8 例、PD (Progressive Disease : 進行) が 1 例であり、奏効率は 61 % であった。術前化学療法の組織学的な治療効果判定は、Grade 0 が 3 例、Grade 1 が 9 例、Grade 2 が 11 例であった。23 症例中 15 例 (65 %) が肉眼的肝転移巣における NQO1 発現陽性であり、8 例 (35 %) が NQO1 発現陰性であった。NQO1 発現陰性の 8 例中、非腫瘍性大型胆管上皮細胞が NQO1 発現陰性を示す NQO1 遺伝子多型が 6 例で認められた。肉眼的肝転移巣の NQO1 発現の有無と術前化学療法の RECIST および組織学的治療効果判

Reprint requests to: Daiki SOMA
Division of Digestive and General Surgery,
Niigata University Graduate School of Medical
and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器・一般外科学分野（第一外科） 相馬大輝

定との間に明らかな関連を認めなかった(各々, $P = 0.400$, $P = 0.193$). 一方, NQO1 遺伝子多型の有無と術前化学療法の RECIST による治療効果判定との関連を検討すると, NQO1 遺伝子多型を認めた6例全例が PR を示したのに対し, NQO1 遺伝子多型を認めなかった17例では8例(47%)が PR であり, NQO1 遺伝子多型により NQO1 発現陰性の症例では有意に奏効率が高かった($P = 0.048$).

【結語】NQO1 が遺伝子多型により発現していない大腸癌肝転移症例は化学療法に対する感受性が高く, NQO1 遺伝子多型は大腸癌肝転移に対する術前化学療法の治療効果を予測する有望なバイオマーカーの候補の1つである.

キーワード: 大腸癌肝転移, NAD(P)H : quinone oxidoreductase - 1, 術前化学療法, 肝内微小転移巣, 肝切除

緒 言

本邦における大腸癌罹患患者数は, 近年, 増加傾向を示しており, 大腸癌からの転移が最も多い臓器は肝臓である¹⁾. 大腸癌肝転移に対する唯一の確立した根治的治療法は外科的肝切除であるが, その単独治療による成績には限界があり, 約3分の2の症例が再発をきたすことが過去の成績より既知の事実となっている²⁾. 一方で, 分子標的薬をはじめとする近年の大腸癌に対する化学療法の進歩は著しく, 進行再発大腸癌の生存期間中央値は約30か月まで延長してきた³⁾. この化学療法の進歩を背景として, 大腸癌肝転移に対して術前化学療法を実施し, 肝切除後の再発の原因の一つである潜在的な画像上検出することができない肝内微小転移巣を根絶することで再発を抑制し, その治療成績を向上させることが試みられている⁴⁾. われわれは, 以前に, 術前化学療法は肝内微小転移の頻度を減少させる効果があることを報告した⁵⁾⁶⁾. しかしながら, 大腸癌肝転移に対する術前化学療法が実際に肝内微小転移巣に及ぼす影響, 特に術前化学療法が肉眼的肝転移巣に及ぼす治療効果と肝内微小転移巣の有無との関連については, 未だ明らかとなっていない.

NAD(P)H : quinone oxidoreductase - 1 (NQO1) は生体内におけるストレス環境下で発現が亢進する抗酸化ストレス蛋白質の一種であり, 抗癌剤による化学療法, 放射線などの酸化ストレスにより誘導されることが知られている⁷⁾. 胃癌, 乳癌,

肺癌といった種々の癌腫において, 遺伝子多型による NQO1 の発現低下は, 発癌の感受性を高めるだけではなく化学療法に対する感受性と関連することが示唆されている^{8) - 10)}. 切除可能な大腸癌肝転移に対する術前化学療法を実施する際には, 非奏効となった場合に切除不能となるリスクを念頭に置く必要があり, 大腸癌肝転移に対する術前化学療法の治療効果を予測することは临床上, 重要な課題である. しかしながら, 大腸癌肝転移における NQO1 発現の有無と術前化学療法の治療効果との関連に関しては一定の見解が得られていない.

本研究では, 大腸癌肝転移に対する術前化学療法が肝内微小転移巣に及ぼす影響, 特に術前化学療法が肉眼的肝転移巣に及ぼす治療効果と肝内微小転移巣の有無との関連について明らかにするとともに, 抗酸化蛋白である NQO1 発現が大腸癌肝転移に対する術前化学療法の治療効果予測因子となり得るか否かを評価する.

対象と方法

対象症例

2005年1月から2013年12月までの期間において, 当科で大腸癌肝転移に対して肝切除が実施された症例は90例であった. 肝内再発に対して再肝切除を実施した16例を除外した初回肝切除74例のうち, 術前化学療法を施行後に肝切除を実施したのは24例で, 肝転移巣が完全に壊死して

いたために肝内微小転移巣や NQO1 発現の有無を評価できなかった 1 例を除く 23 例を本研究の対象とした。23 例の性別の内訳は男性が 12 例、女性が 11 例、年齢の中央値は 62 歳 (33-78 歳) であった。原発巣に関しては結腸が 15 例、直腸が 8 例であり、原発巣切除時の病期は、AJCC の TNM 分類¹¹⁾ に準じて記載すると、Stage III が 2 例、Stage IV が 21 例であった。

治療法

術前化学療法に関しては、原則、適格な化学療法を肝切除前に少なくとも 3 コース以上実施することを条件とした。適格な化学療法とは、FOL-FOX6 (folinic acid, fluorouracil, oxaliplatin), CapeOx (capecitabine, oxaliplatin), FORFIRI (folinic acid, fluorouracil, irinotecan), IRIS (irinotecan, S-1) とし、5-FU 系薬剤単剤による術前化学療法は除外した。術前化学療法は、原発巣の病期が進行した症例、同時性肝転移症例、多発肝転移症例で選択されることが多い傾向がみられた。術前化学療法の治療効果判定は、造影 CT 検査を用いて RECIST ガイドライン (version 1.1)¹²⁾ に準じて実施した。

肝切除術式は、肝転移巣の大きさ、個数、局在、肝予備能、患者の全身状態に応じて、癌遺残のない手術を遂行することを条件として選択した。小腫瘍径または肝表近くの腫瘍では非系統的肝切除 (部分切除) が選択され、逆に、腫瘍径が大きく、肝の比較的深部に位置する腫瘍や全身状態が良好な症例では肝をより広範囲に切除する系統的肝切除が選択される傾向がみられた。

病理組織学的検索

肝転移個数、最大腫瘍径、組織分化度、術前化学療法の効果、肝切離マージン、肝内微小転移巣に関して、切除標本において病理組織学的に検索した。衛星結節は Taylor の定義¹³⁾ に基づいて判定し、肉眼的肝転移巣から除外した。組織分化度は標本内で最も分化度が低い部分で評価した。術前化学療法の組織学的効果は、大腸癌取り扱い規約第 8 版¹⁴⁾ に従って、Grade 0 (無効)、Grade 1 (軽

度の効果)、Grade 2 (かなりの効果)、Grade 3 (著効) の 4 段階で判定した。肝切離マージンに関しては、腫瘍細胞の有無により R0 (遺残なし)、R1 (顕微鏡的遺残あり) と評価した。R0 症例では組織学的肝切離マージンを測定し、R1 症例では肝切離マージンを 0 cm とした。多発症例では、最も短い肝切離マージンを記録した。

免疫組織化学

肝内微小転移巣は、肉眼的肝転移巣から非癌肝組織により隔てられた組織学的病巣と定義した⁵⁾。肝内微小転移巣の検索は、パラフィン包埋ブロック (中央値 6 個, 22-31 個) から 3 μ m の連続組織切片を 4 枚作製し、1 枚で HE 染色, 2 枚で免疫組織化学を行い、1 枚を negative control とした。免疫組織化学には、リンパ管内皮細胞に特異的な D2-40 モノクローナル抗体 (SIG-730, Signet Laboratories, Dedham, MA) と静脈・リンパ管の両者の内皮細胞を認識する CD34 モノクローナル抗体 (Dakocytomation, Denmark A/S) とを用いた。

大腸癌肉眼的肝転移巣および原発巣の NQO1 発現の有無は、各々の標本において、NQO1 モノクローナル抗体 (Epitomics, Burlingame, CA) を用いた免疫組織化学を行うことで同定した。Winski ら¹⁵⁾ の記載に基づき、細胞質と核のいずれか、または、その両者が染色された場合を NQO1 発現陽性と定義し、対象症例を NQO1 発現陽性症例と陰性症例とに分類した。肉眼的肝転移巣標本中の非腫瘍性の大型胆管上皮細胞に関しては、通常は免疫組織化学によりその細胞質が染色されて NQO1 発現陽性を示すが、なかには NQO1 発現陰性を示す症例も存在した。この現象は、その症例において遺伝子多型により NQO1 発現が低下しているためと考えられた。肉眼的肝転移巣の腫瘍細胞が NQO1 発現陰性を示す場合、同一標本内の非腫瘍性大型胆管上皮細胞が NQO1 発現陽性であれば NQO1 発現陰性化症例、NQO1 発現陰性であれば NQO1 遺伝子多型症例とした。

術後経過観察

23例中6例で術後合併症を認めたが、いずれもClavien-Dindo分類¹⁶⁾のGrade IIIa以下の合併症であった。今回の対象症例において、在院死亡は認められなかった。23例中18例で肝切除後に補助化学療法を実施した。経口5-FU系抗癌剤が単剤で11例に投与された。経静脈的に5-FU+LV (fluorouracil, folinic acid) が3例、FOLFIRIが2例、FOLFOX6が1例、IRISが1例に投与された。対象症例は、退院後に1-6か月ごとに血液検査や画像検査を実施して定期的に外来で経過観察された。肝切除後の経過観察期間の中央値は50か月(範囲: 6-88か月)であった。

統計学的解析

2群間の頻度検定にはFisher正確検定を用いた。累積生存率をKaplan-Meier法により算出し、log rank法で検定した。統計学的解析には、PASW statistics 22 software package (SPSS Japan Inc., Tokyo, Japan)を用いた。いずれの検定においても両側P値を用い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した。

結 果

術前化学療法

23例に対する術前化学療法の内訳は、FOLFOX6が11例、CapeOxが7例、IRISが4例、FOLFIRIが1例であった。分子標的薬に関しては、抗血管内皮細胞増殖因子抗体 (bevacizumab) を12例、抗上皮増殖因子受容体抗体 (panitumumab) を1例で併用した。術前化学療法がFOLFOX6で開始された1例、IRISで開始された2例に関しては、投与後の造影CT検査における治療効果判定がPD (Progressive Disease : 進行)であったため、各々FOLFIRI + panitumumab, FOLFOX6へ術前化学療法の内容を変更した。

肝切除術式

23例中、20例で系統的肝切除を、3例で非系統的肝切除(部分切除)を実施した。系統的肝切除

20例の内訳は、肝右葉切除が8例、外側区域切除が5例、右3区域切除が2例、左葉切除が2例、前区域切除が1例、後区域切除が1例、中央2区域切除が1例であった。系統的肝切除が実施された20例中6例で同時に非系統的肝切除が併施された。同時性肝転移が20例で、そのうち原発巣と肝転移巣とが同時に切除されたのは1例のみであった。肉眼的肝転移巣の局在に関しては、片葉が11例、両葉が12例であった。肝切除前の血清CEA値の中央値は10 ng/mL (1.6-987.2 ng/mL)であった。

病理組織学的検索

合計78個の肉眼的肝転移巣を認め、単発が5例、多発が18例であった。各症例の最大腫瘍径の中央値は2.4 cm (0.6-8.8 cm)であった。組織型はいずれも腺癌であり、組織分化度に関しては高分化腺癌が1例、中分化腺癌が19例、低分化腺癌が3例であった。組織学的肝切離マージンは、1 cm未満が15例、1 cm以上が8例であり、本研究の対象症例ではR1症例を認めなかった。

術前化学療法の治療効果と肝内微小転移巣の有無との関連

術前化学療法を施行した23例中7例(30%)において、肝内微小転移巣を合計45病巣認めた。症例当たりの肝内微小転移巣の中央値は2病巣(範囲: 1-22病巣)であった。同定された肝内微小転移45病巣は全て肉眼的肝転移巣から1 cm未満の領域に認められた。肝内微小転移の進展様式は、類洞浸潤3例、門脈浸潤3例、グリソン鞘内間質浸潤3例、肝静脈浸潤2例、胆管浸潤1例、肝内リンパ管浸潤1例であった(重複あり)。

23例のRECISTによる術前化学療法の治療効果判定は、PR (Partial Response : 部分奏効)が14例、SD (Stable Disease : 安定)が8例、PDが1例であり、奏効率は61%であった。術前化学療法の組織学的な治療効果判定は、Grade 0が3例、Grade 1が9例、Grade 2が11例であった。本検討では、術前化学療法のRECISTによる治療効果判定と組織学的な治療効果判定との間に明ら

表 1 大腸癌肝転移 23 症例における術前化学療法の治療効果判定と肝内微小転移巣の有無との関連

	症例数		P 値
	肝内微小転移巣 有り	肝内微小転移巣 無し	
RECIST ガイドラインによる治療効果判定*			>0.999
PR	4	10	
SD+PD	3	6	
組織学的な治療効果判定†			0.069
Grade 0 / 1	6	6	
Grade 2	1	10	

PR (partial response) : 部分奏効, SD (stable disease) : 安定, PD (progressive disease) : 進行, Grade 0 : 無効, Grade 1 : 軽度の効果, Grade 2 : かなりの効果.

*RECIST ガイドライン (version 1.1) ¹²⁾ に準じて分類した.

†大腸癌取扱い規約第 8 版 ¹⁴⁾ に準じて分類した.

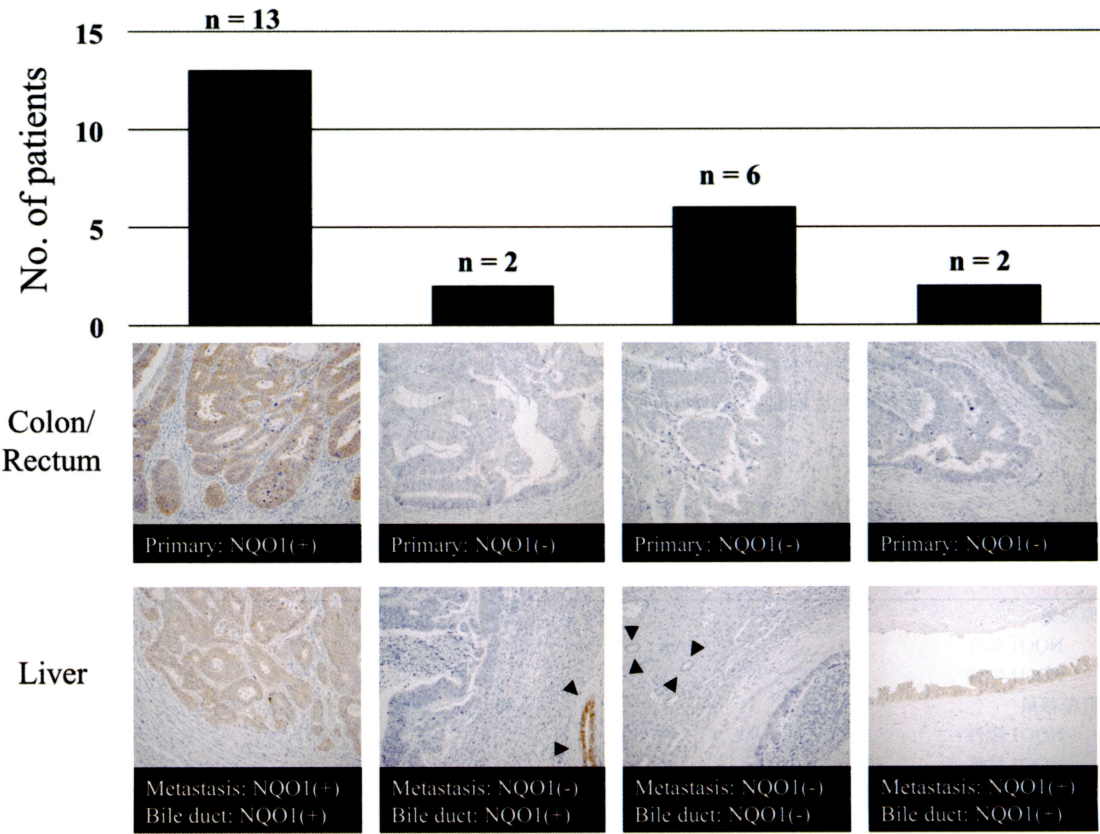


図 1 術前化学療法後に肝切除が実施された大腸癌肝転移 23 症例における肉眼的肝転移巣および原発巣の NQO1 発現の有無

かな関連は認められなかった ($P = 0.400$).

23 例において、術前化学療法の RECIST による治療効果判定と肝内微小転移巣の有無との間に明らかな関連は認められなかった (表 1 ; $P > 0.999$). 一方で、術前化学療法の組織学的な治療効果判定と肝内微小転移巣の有無との関連を検討すると、組織学的な治療効果判定が Grade 0 または 1 であった 12 例中 6 例で肝内微小転移巣を認めたのに対し、Grade 2 であった 11 例では 1 例で肝内微小転移巣を認めるのみであった. 統計学的に有意差は認められなかったが、肉眼的肝転移巣において術前化学療法に対する組織学的な治療効果が得られた症例では肝内微小転移巣が検出されない傾向が認められた (表 1 ; $P = 0.069$).

肉眼的肝転移巣および原発巣における NQO1 発現

術前化学療法が施行された 23 例に対して NQO1 モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学を行ったところ、NQO1 発現陽性症例では細胞質全体がびまん性に染色された (図 1). 23 症例中 15 例 (65 %) では肉眼的肝転移巣の NQO1 発現が陽性であり、8 例 (35 %) では NQO1 発現が陰性であった (図 1). 肉眼的肝転移巣において NQO1 発現が陽性であった 15 例に関しては、原発巣の NQO1 発現は 13 例が陽性、2 例が陰性であり、非腫瘍性大型胆管上皮細胞の NQO1 発現は

全例が陽性であった (図 1). また、肉眼的肝転移巣の NQO1 発現が陰性であった 8 例に関しては、原発巣の NQO1 発現は全例が陰性であり、非腫瘍性大型胆管上皮細胞の NQO1 発現が陰性を示す NQO1 の遺伝子多型は 6 例で認められた (図 1).

NQO1 発現の有無と術前化学療法の治療効果との関連

23 例において、肉眼的肝転移巣における NQO1 発現の有無と術前化学療法の RECIST および組織学的治療効果判定との間には、明らかな関連は認められなかった (表 2 ; 各々、 $P = 0.400$, $P = 0.193$). また、大腸癌原発巣における NQO1 発現の有無に関しても、同様の結果を示した (表 2 ; 各々、 $P = 0.669$, $P = 0.680$). 一方、NQO1 遺伝子多型の有無と RECIST による術前化学療法の治療効果判定との関連を検討すると、NQO1 遺伝子多型を認めた 6 例全例が治療効果判定 PR を示したのに対し、NQO1 遺伝子多型を認めなかった 17 例では 8 例 (47 %) が PR を示し、NQO1 遺伝子多型により NQO1 発現が陰性の大腸癌肝転移症例では有意に術前化学療法の奏効率が高かった (表 2 ; $P = 0.048$). NQO1 遺伝子多型の有無と術前化学療法の組織学的な治療効果判定の間には明らかな関連は認められなかった (表 2 ; $P = 0.640$).

表 2 大腸癌肝転移 23 症例における NQO1 発現と術前化学療法の治療効果判定との関連

	RECIST による治療効果判定*		P 値	組織学的な治療効果判定†		P 値
	PR	SD+PD		Grade 0/1	Grade 2	
原発巣			0.669			0.680
NQO1 陽性	7	6		6	7	
NQO1 陰性	7	3		6	4	
肝転移巣			0.400			0.193
NQO1 陽性	8	7		6	9	
NQO1 陰性	6	2		6	2	
NQO1 遺伝子多型			0.048			0.640
なし	8	9		8	9	
あり	6	0		4	2	

PR (partial response) : 部分奏効, SD (stable disease) : 安定, PD (progressive disease) : 進行, Grade 0 : 無効, Grade 1 : 軽度の効果, Grade 2 : かなりの効果.

*RECIST ガイドライン (version 1.1) ¹²⁾ に準じて分類した.

†大腸癌取り扱い規約第 8 版 ¹⁴⁾ に準じて分類した.

肝切除後の成績

肝切除後の経過観察期間中、23 例中 11 例で再発を認めた。再発部位の内訳は、肺 5 例、肝 4 例、骨 2 例、腹膜 2 例（重複あり）であった。再発を認めた 11 例中、孤立性肺転移を認めた 1 例で肺切除を実施した。その他の症例では、再発治療として化学療法を選択した。予後調査の時点で、5 例が原病死、6 例が再発生存中、12 例が無再発生存中であった。

全症例の累積 3 年無再発生存率は 48 %、無再発生存期間の中央値は 35 か月であった。肝内微小転移陽性 7 例、陰性 16 例の累積 3 年無再発生存率は各々 29 %、58 %であり、陽性例では陰性例と比較して無再発生存率が有意に低かった ($P = 0.019$)。肉眼的肝転移巣における NQO1 発現陽性 15 例、陰性 8 例の累積 3 年無再発生存率は各々 41 %、65 %であり、肉眼的肝転移巣の NQO1 発現の有無と無再発生存との間に明らかな関連は認められなかった ($P = 0.241$)。また、NQO1 遺伝子多型を認めた 6 例、認めなかった 17 例の累積 3 年無再発生存率は各々 56 %、45 %であり、NQO1 遺伝子多型の有無と無再発生存との間に明らかな関連は認められなかった ($P = 0.447$)。

全症例の累積 3 年全生存率は 88 %、全生存期間の中央値は 73 か月であった。肝内微小転移陽性 7 例、陰性 16 例の 3 年全生存率は各々 56 %、90 %であり、陽性例は陰性例と比較して全生存率が低い傾向が認められた ($P = 0.193$)。肉眼的肝転移巣における NQO1 発現陽性 15 例、陰性 8 例の 3 年全生存率は各々 84 %、100 %であり、肉眼的肝転移巣の NQO1 発現の有無と全生存との間に明らかな関連は認められなかった ($P = 0.964$)。また、NQO1 遺伝子多型を認めた 6 例、認めなかった 17 例の累積 3 年全生存率は各々 100 %、84 %であり、NQO1 遺伝子多型の有無と全生存との間に明らかな関連は認められなかった ($P = 0.964$)。

考 察

近年の大腸癌に対する化学療法の進歩に伴い、

集学的治療の一環として大腸癌肝転移に対して術前化学療法を選択する機会が増えている⁴⁾。術前化学療法の主目的の 1 つとして、腫瘍の生物学的悪性度の評価、腫瘍縮小による肝切除範囲の縮小、切除標本における化学療法の奏効性の評価などに加えて、潜在的な肝内微小転移巣の制御が挙げられる⁴⁾¹⁷⁾。われわれも再発リスクの高い大腸癌肝転移症例を中心に積極的に術前化学療法を実施してきた。しかしながら、術前化学療法に対する肉眼的肝転移巣の治療効果と肝内微小転移の有無との関連については未だ明らかではなかった。また、術前化学療法を実施した症例の中には術前の治療効果判定が PD となった症例も存在することから、術前化学療法の効果を予測するバイオマーカーを確立することは臨床上、重要な課題であり、今回、抗酸化ストレス蛋白質の 1 つで化学療法に対する感受性と関連することが指摘されている NQO1 に着目した。本研究の結果から、肉眼的肝転移巣において術前化学療法に対する組織学的な治療効果がみられた症例では肝内微小転移巣が消失している可能性が高いこと、また、NQO1 が遺伝子多型により発現していない症例は化学療法に対する感受性が高く、NQO1 の遺伝子多型は術前化学療法の大腸癌肝転移に対する治療効果を予測するマーカーの 1 つになり得ることが示唆された。

肝内微小転移巣に関しては、大腸癌肝転移切除症例の 31 - 70 % に存在することが今までに報告されている²⁾⁵⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。われわれは以前に、術前化学療法施行例における肝内微小転移巣の頻度は、術前化学療法未施行例における頻度と比較して明らかに低率であることから、大腸癌肝転移に対する術前化学療法は肝内微小転移巣の減少効果があることを報告した⁶⁾。本研究では、肉眼的肝転移巣において術前化学療法に対する組織学的な治療効果がみられた症例では肝内微小転移巣が検出されない傾向が認められた。この結果は、術前化学療法が肝内微小転移巣の減少効果を有することを強く支持している。一方で、本研究では、肉眼的肝転移巣における術前化学療法に対する RECIST ガイドラインによる治療効果判定と肝内微小転移巣の有無との間に関連はみられなかった。また、

肉眼的肝転移巣における術前化学療法に対するRECISTを用いた治療効果判定と組織学的な治療効果判定との間にも明らかな関連は認められなかった。このことは、諸家が報告しているように、RECISTガイドラインによる画像上の標的病変の大きさの変化を用いた化学療法の治療効果判定の限界を示していると考えられる¹⁾。

近年、大腸癌肝転移症例における肝内微小転移巣の研究に関する報告が増えつつある⁵⁾⁶⁾¹⁸⁾。いずれの報告も、大腸癌肝転移症例における肝内微小転移巣の存在は肝切除後の残肝再発の危険因子であり、肝内微小転移陽性例は陰性例と比較して肝切除後の生存率が低いことを示している⁵⁾。われわれの以前の報告⁶⁾および本研究においても、同様の結果が得られている。肝内微小転移巣の存在は、肝切除後の強い再発危険因子であり、前述した通り、術前化学療法が肝内微小転移巣の減少効果が示していることを考慮すると、大腸癌肝転移に対する術前化学療法は肝切除後の再発のリスクを減少させて予後改善に寄与している可能性があり、集学的治療の選択肢の1つとして妥当である。

NQO1はフラボ蛋白質の一種で、生体異物であるquinone類の2電子還元反応を触媒し、低毒化または無毒化する働きを有する²⁰⁾。生体内では、酸化ストレスに応じて転写因子であるnuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)が核内に移行することで、NQO1の転写が活性化される²¹⁾。正常細胞においては、NQO1は酸化ストレスから細胞を守り²⁰⁾²¹⁾、同時に細胞の発癌を抑制しているとされる²²⁾²³⁾。NQO1には、C609Tの置換により特徴づけられる遺伝子多型が知られており、この多型は人口の4.4%-20.3%に認められるミスセンス遺伝子変異である²⁴⁾。実際に、NQO1遺伝子多型によるNQO1発現の欠失が、発癌の感受性を高めていることが種々の癌腫で報告されている²⁵⁾⁻²⁹⁾。本研究でも、少数例の検討ではあるが、NQO1遺伝子多型によると考えられるNQO1の発現欠失が26%の頻度で観察された。

近年、NQO1発現の有無と抗癌剤による化学療法に対する感受性との関連が種々の癌腫において指摘されている³⁰⁾。しかしながら、癌腫および抗

癌剤の種類に応じて、その関連に関しては相反する結果が得られることもあり、未だ不明な点が多いのが現状である。大腸癌に関しては、以前、われわれは種々の抗癌剤による化学療法で治療された切除不能・再発大腸癌においてNQO1発現の有無と予後との関連を検討した³¹⁾。その結果、抗上皮増殖因子受容体抗体による治療対象となるKRAS遺伝子野生型の症例において、NQO1発現陰性症例の治療成績は陽性症例の治療成績より良好な傾向を示した。また、Sutton Pら³²⁾は、大腸癌肝転移巣に対する術前化学療法の治療効果を予測するためのバイオマーカーを同定するために大腸癌原発巣におけるプロテオーム解析を行った。5-FUを基盤とした化学療法の効果とNQO1発現とが関連することを報告するとともに、NQO1発現をsiRNA (small interfering RNA)を用いたRNA干渉によりノックダウンすることやNQO1の阻害剤としての性質を持つdicoumarolを投与することが、5-FUやイリノテカンの大腸癌細胞に対する細胞傷害性を増強させることを示した³²⁾。本研究の結果も、NQO1が遺伝子多型により発現していない症例は化学療法に対する感受性が高いことを示唆するものであった。以上の結果は、大腸癌肝転移症例において、NQO1発現陰性症例では現在広く用いられている5-FUを基盤とした化学療法の治療効果が得られる可能性が高いことを示している。NQO1は術前化学療法の治療効果を予測する有望なバイオマーカーの1つとなり得ると考えられる。

本研究にはいくつかのlimitationがある。第一にretrospectiveな研究であること、第二に対象症例数が少ないこと、第三に経過観察期間が短いことである。今後、多数の大腸癌肝転移症例において前向きにNQO1発現と術前化学療法の治療効果との関連を検討する必要がある。

結 論

大腸癌の肉眼的肝転移巣において術前化学療法に対する組織学的効果がみられた症例では肝内微小転移巣が検出されない傾向があり、大腸癌肝転

移に対する術前化学療法は肝内微小転移巣を減少させることで肝切除後の再発のリスクを減少させて予後改善に寄与している可能性がある。NQO1 が遺伝子多型により発現していない大腸癌肝転移症例は抗癌剤による化学療法に対する感受性が高く、NQO1 遺伝子多型は大腸癌肝転移に対する術前化学療法の治療効果を予測する有望なバイオマーカーの候補の 1 つである。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました新潟大学大学院医歯学総合病院研究科消化器・一般外科学分野、若井俊文教授、坂田純講師に深謝いたします。

文 献

- Sheth KR and Clary BM: Management of Hepatic Metastases from Colorectal Cancer. *Clinics in Colon and Rectal Surgery* 18: 215 - 223, 2005.
- Nanko M, Shimada H, Yamaoka H, Tanaka K, Masui H, Matsuo K, Ike H, Oki S and Hara M: Micrometastatic colorectal cancer lesions in the liver. *Surg Today* 28: 707 - 713, 1998.
- Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I, Folprecht G, Nowacki MP, Cascinu S, Shchepotin I, Maurel J, Cunningham D, Tejpar S, Schlichting M, Zubel A, Celik I, Rougier P and Ciardiello F: Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 29: 2011 - 2019, 2011.
- 海堀昌樹, 岩本慈能, 石崎守彦, 松井康輔, 岡崎智, 神原達也, 井上健太郎, 徳原克治, 吉岡和彦, 権 雅憲: 大腸癌肝転移に対する肝切除術を考慮した術前化学療法. *日本外科系連合学会誌* 37: 696 - 701, 2012.
- Wakai T, Shirai Y, Sakata J, Valera VA, Korita PV, Akazawa K, Ajioka Y and Hatakeyama K: Appraisal of 1 cm hepatectomy margins for intrahepatic micrometastases in patients with colorectal carcinoma liver metastasis. *Ann Surg Oncol* 15: 2472 - 2481, 2008.
- Wakai T, Shirai Y, Sakata J, Kameyama H, Nogami H, Iiai T, Ajioka Y and Hatakeyama K: Histologic evaluation of intrahepatic micrometastases in patients treated with or without neoadjuvant chemotherapy for colorectal carcinoma liver metastasis. *Int J Clin Exp Pathol* 5: 308 - 314, 2012.
- Garate M, Wani AA and Li G: The NAD (P) H: Quinone Oxidoreductase 1 induces cell cycle progression and proliferation of melanoma cells. *Free Radic Biol Med* 48: 1601 - 1609, 2010.
- Lin L, Qin Y, Jin T, Liu S, Zhang S, Shen X and Lin Z: Significance of NQO1 overexpression for prognostic evaluation of gastric adenocarcinoma. *Exp Mol Pathol* 96: 200 - 205, 2014.
- Rosvold EA, McGlynn KA, Lustbader ED and Buetow KH: Identification of an NAD (P) H: quinone oxidoreductase polymorphism and its association with lung cancer and smoking. *Pharmacogenetics* 5: 199 - 206, 1995.
- Logsdon CD, Simeone DM, Binkley C, Arumugam T, Greenson JK, Giordano TJ, Misek DE, Kuick R and Hanash S: Molecular profiling of pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis identifies multiple genes differentially regulated in pancreatic cancer. *Cancer Res* 63: 2649 - 2657, 2003.
- Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL and Trotti A: *AJCC Cancer Staging Manual*. 7th ed, Springer, New York, pp143 - 164, 2010.
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D and Verweij J: New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 45: 228 - 247, 2009.
- Taylor M, Forster J, Langer B, Taylor BR, Greig PD and Mahut C: A study of prognostic factors for hepatic resection for colorectal metastases. *Am J Surg* 173: 467 - 471, 1997.
- 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 第 8 版, 金原出版, 東京, 2013.
- Winski SL, Koutalos Y, Bentley DL and Ross D:

- Subcellular localization of NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1 in human cancer cells. *Cancer Res* 62: 1420 - 1424, 2002.
- 16) Clavien PA, Barkun J, de Oliveira ML, Vauthey JN, Dindo D, Schulick RD, de Santibañes E, Pekolj J, Slankamenac K, Bassi C, Graf R, Vonlanthen R, Padbury R, Cameron JL and Makuuchi M: The Clavien - Dindo classification of surgical complications five - year experience. *Ann Surg* 250: 187 - 196, 2009.
- 17) 加藤健志: 大腸癌肝転移に対する周術期化学療法. *日本大腸肛門病会誌* 67: 877 - 887, 2014.
- 18) Yokoyama N, Shirai Y, Ajioka Y, Nagakura S, Suda T and Hatakeyama K: Immunohistochemically detected hepatic micrometastases predict a high risk of intrahepatic recurrence after resection of colorectal carcinoma liver metastases. *Cancer* 94: 1642 - 1647, 2002.
- 19) Ambiru S, Miyazaki M, Isono T, Ito H, Nakagawa K, Shimizu H, Kusashio K, Furuya S and Nakajima N: Hepatic resection for colorectal metastases: analysis of prognostic factors. *Dis Colon Rectum* 42: 632 - 639, 1999.
- 20) Chua TC, Saxena A, Liauw W, Kokandi A and Morris DL: Systematic review of randomized and nonrandomized trials of the clinical response and outcomes of neoadjuvant systemic chemotherapy for resectable colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 17: 492 - 501, 2010.
- 21) Jaiswal AK: Regulation of genes encoding NAD (P) H: quinone oxidoreductases. *Free Radic Biol Med* 29: 254 - 262, 2000.
- 22) Asher G, Lotem J, Cohen B, Sachs L and Shaul Y: Regulation of p53 stability and p53 - dependent apoptosis by NADH quinone oxidoreductase 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 1188 - 1193, 2001.
- 23) Anwar A, Dehn D, Siegel D, Kepa JK, Tang LJ, Pietenpol JA and Ross D: Interaction of human NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) with the tumor suppressor protein p53 in cells and cell - free systems. *J Biol Chem* 278: 10368 - 10373, 2003.
- 24) Ross D, Traver RD, Siegel D, Kuehl BL, Misra V and Rauth AM: A polymorphism in NAD (P) H: quinone oxidoreductase (NQO1): relationship of a homozygous mutation at position 609 of the NQO1 cDNA to NQO1 activity. *Br J Cancer* 74: 995 - 996, 1996.
- 25) Schlager JJ and Powis G: Cytosolic NAD (P) H: (quinone - acceptor) oxidoreductase in human normal and tumor tissue: effects of cigarette smoking and alcohol. *Int J Cancer* 45: 403 - 409, 1990.
- 26) Siegel D and Ross D: Immunodetection of NAD (P) H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) in human tissues. *Free Radic Biol Med* 29: 246 - 253, 2000.
- 27) Siegel D, Franklin WA and Ross D: Immunohistochemical detection of NAD (P) H: quinone oxidoreductase in human lung and lung tumors. *Clin Cancer Res* 4: 2065 - 2070, 1998.
- 28) Cresteil T and Jaiswal AK: High levels of expression of the NAD (P) H: quinone oxidoreductase (NQO1) gene in tumor cells compared to normal cells of the same origin. *Biochem Pharmacol* 42: 1021 - 1027, 1991.
- 29) Ough M, Lewis A, Bey EA, Gao J, Ritchie JM, Bornmann W, Boothman DA, Oberley LW and Cullen JJ: Efficacy of beta - lapachone in pancreatic cancer treatment: exploiting the novel, therapeutic target NQO1. *Cancer Biol Ther* 4: 95 - 102, 2005.
- 30) Buranrat B, Prawan A, Kukongviriyapan U, Kongpetch S and Kukongviriyapan V: Dicoumarol enhances gemcitabine - induced cytotoxicity in high NQO1 - expressing cholangiocarcinoma cells. *World J Gastroenterol* 16: 2362 - 2370, 2010.
- 31) 佐藤 洋: 切除不能・再発大腸癌におけるNAD (P) H: Quinone Oxidoreductase1発現の臨床的意義. *新潟医学会誌* 129: 300 - 308, 2015.
- 32) Sutton P, Evans J, Jones R, Sahgal O, Malik H and Kitteringham N: Evaluation of NQO1 as a predictive biomarker and therapeutic target in metastatic colorectal cancer. *Lancet* 387: S96, 2016.

(平成29年3月22日受付)