

博士論文

食道がん術前ドセタキセル、シスプラチン、5-フルオロラシル療

法施行患者の有害事象ならびに腫瘍縮小効果の予測因子探索

Exploration of predictive markers associated with adverse events and clinical

response to docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil neoadjuvant chemotherapy

in patients with resectable esophagus cancer

2022 年 7 月

野村 久祥

本論文中に用いた略語は以下の通りである。

95% CI:	95% confidence interval
AC:	adenocarcinoma
ABC:	adenosine triphosphate-binding cassette
ABCB1:	adenosine triphosphate-binding cassette B member1
ABCC2:	adenosine triphosphate-binding cassette C member2
ABCG2:	adenosine triphosphate-binding cassette G member2
Alb:	albumin
AUC:	area under the blood concentration-time curve
AST:	aspartate aminotransferase
BER:	base excision repair
BMI:	body mass index
BCRP:	breast cancer resistance protein
CF:	cisplatin and 5-fluorouracil
csFN:	clinical suspected febrile neutropenia
CTCAE:	common toxicity criteria for adverse events
CR:	complete response
CT:	computed tomography
CYP:	cytochrome P450
dFN:	definite febrile neutropenia
DNA:	deoxyribonucleic acid
DCF:	docetaxel, cisplatin and 5-fluorouracil
DTX:	docetaxel
ERCC1:	excision repair cross-complementation group 1
ERCC2:	excision repair cross-complementation group 2
FN:	febrile neutropenia
GST:	glutathione-S-transferase
G-CSF:	granulocyte colony stimulation factor
Hb:	hemoglobin
HR:	homologous recombination
LLN:	lower limit normal
mRNA:	messenger ribonucleic acid
MRP2:	multidrug resistance protein 2
NER:	nucleotide excision repair

OR:	odds ratio
OATP:	organic anion transporting polypeptide
P-gp:	P-glycoprotein
PR:	partial response
PS:	performance status
PCR:	polymerase chain reaction
PCR-RFLP:	polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism
PD:	progressive disease
RECIST:	response evaluation criteria in solid tumors,
SrCr:	serum creatinine
SLCO:	solute carrier organic anion transporter
SLCO1B3:	solute carrier organic anion transporter family member 1B3
SCC:	squamous cell carcinoma
SD:	stable disease
uORF:	upstream open reading frame
UGT:	uridine diphosphate glucuronosyltransferase
XRCC1:	X-ray repair cross-complementing group 1
XRCC3:	X-ray repair cross-complementing group 3

以上アルファベット順

目次

緒言	1
第 1 章 食道がん DCF 療法施行患者を対象とした発熱性好中球数減少症発現の予測因子の解析	3
第 1 節 序論	3
第 2 節 方法	4
2-1. 対象患者	4
2-2. 治療	4
2-3. 評価方法	5
2-4. 統計解析	6
第 3 節 結果	6
3-1. 患者背景	6
3-2. 好中球数減少と FN の発現率	8
3-3. csFN 発現患者と非発現患者の治療前患者背景の比較	8
3-4. csFN 発現の予測因子	10
第 4 節 考察	12
第 2 章 食道がん DCF 療法において重篤な好中球数減少に関係する遺伝子多型の解析	15
第 1 節 序論	15
第 2 節 方法	17
2-1. 対象患者	17
2-2. 患者選択と調査項目	17
2-3. 統計解析	18
第 3 節 結果	19
3-1. 患者背景	19
3-2. グレード 3 以上の重篤な好中球数減少発現患者と非発現患者	20
3-3. 単変量解析による重篤な好中球数減少発現患者と遺伝子型の関係	21
3-4. グレード 3 以上の重篤な好中球数減少発現の予測因子	22
3-5. 予測因子保有数とグレード 3 以上の重篤な好中球数減少発現の関係	23
第 4 節 考察	24
第 3 章 食道がん DCF 療法において腫瘍縮小効果に関係する遺伝子多型の解析 ..	27
第 1 節 序論	27
第 2 節 患者および方法	28

2-1. 対象患者	28
2-2. 患者選択と調査項目	28
2-3. 腫瘍縮小効果	28
2-4. 遺伝子多型解析	29
2-5. 統計解析	29
第3節 結果	30
3-1. 患者背景	30
3-2. 単変量解析による腫瘍縮小効果と遺伝子型の関係	33
3-3. 腫瘍縮小効果と臨床的症状の多変量解析	36
3-4. XRCC3 rs1799794 AA 保有患者の腫瘍縮小効果	37
3-5. 腫瘍縮小効果とグレード3以上の好中球数減少	37
第4節 考察	38
総括	40
謝辞	41
参考文献	42

緒言

国立がん研究センターがん情報サービス がん統計によれば、本邦の食道がんは、年間罹患数 25,920 人（2018 年）、5 年相対生存率は 42%と胃がん 62%、大腸がん 63%に比べ、消化器がんのなかでも予後不良ながんである¹⁾。臨床病期

（clinical stage, c-stage）ⅡまたはⅢの食道がんに対して、術前化学療法と術後化学療法を比較した第Ⅲ相試験では、術前化学療法が術後化学療法に比べ全生存期間において良好な成績であった²⁾。この結果を受けて、c-stageⅡまたはⅢの食道がんの患者に対してはシスプラチンと 5-フルオロウラシルの併用による術前化学療法（CF 療法）が標準治療として位置付けられている。しかし、根治を目指す術前 CF 療法の 5 年生存率は 55%であり十分な治療効果とはいえず、現在、CF 療法にドセタキセル（Docetaxel, DTX）を加えた DCF 療法の開発が進められている³⁾。術前 DCF 療法の安全性および有効性・用法・用量を検証した Hara らの第Ⅱ相試験では奏効率が 64%、2 年生存率も 88%と極めて良好な腫瘍縮小効果と生存期間の延長が示され⁴⁾、c-stageⅠB,Ⅱ,Ⅲの食道がん患者を対象として、術前 CF 療法に対する DCF 療法または CF 療法と放射線の併用療法の優越性を検証する第Ⅲ相試験が行われている³⁾。Hara らの第Ⅱ相試験では、プロトコル上、重篤な有害事象が発現した場合は、次コースより減量することが規定され、2 コース目では 43%の患者が、3 コース目ではさらに 23%の患者が減量を余儀なくされ、プロトコルで規定された 3 コースを減量なく完遂した患者は全患者の 17%のみであることが報告された⁴⁾。有害事象の対策を適切に行い、dose intensity を低下させることなく治療完遂率を高めることにより、治療成績向上を目指すことが臨床上の課題である。

好中球数減少は多くの抗がん薬の用量制限毒性であり、対応が不十分な場合には、発熱性好中球減少症（febrile neutropenia, FN）を経て死に至らしめる有害事象である。FN 発現の予測因子は、治療側の因子と患者側の因子の 2 つに大別される。治療側の因子としては、投与する抗がん薬の種類や投与スケジュールなどが指摘されている。患者側の因子としては、年齢、性別、治療開始前の臨床検査値などが指摘されている⁵⁾。また、薬物の応答性に個人差があることは古くから知られており、これを規定する要因の一つとされる患者の遺伝的な応答性の違いに着目した薬理遺伝学的研究が近年では盛んに行われている。薬物の曝露量に影響する薬物動態関連分子の遺伝子多型と薬物動態パラメーターの相関について十分な検討が行われている代表的な薬物としてイリノテカンが挙げられる。現在ではイリノテカン投与前に代謝酵素である UDP グルクロン酸転移酵素（uridine diphosphate glucuronosyltransferase, UGT）1A1 の遺伝子多型検査を実施することが推奨されている。2000 年以降、薬物輸送に関わるトランスポーターや薬物代謝酵素の遺伝子多型と有害事象との関連性についての臨床研究の成果が相次いで報告され⁶⁻⁸⁾、有害事象発現の回避を目的とした遺伝子多型検査の個別化医療への応用

が期待されている。

前述したように術前 DCF 療法は第Ⅱ相試験の結果、高い腫瘍縮小効果を有することが示され⁴⁾、この結果を受けて有効性・安全性を検証する第Ⅲ相試験が実施されている³⁾。本治療は高い奏効率を示す一方、第Ⅲ相試験では、CF 療法が施行された患者群ではグレード3以上の好中球数減少は23%であったのに対し、DCF 療法では85%と大幅な増加が認められた⁹⁾。したがって、CF 療法に DTX を加えた DCF 療法によるグレード3以上の重篤な好中球数減少の原因は DTX を加えたことにあると考えた。

DTX は、本邦では欧米よりも少ない用量で承認が得られている。その理由として、DTX の体内動態や作用部位での感受性の違いにより、人種間で毒性発現のプロファイルに差が生じる可能性が示唆されている¹⁰⁾。Kenmotsu らは、日本人と欧米人との間で DTX による好中球数減少の発現率が異なる要因として、DTX の細胞内への取り込みや排出に関与するトランスポーター活性や代謝酵素活性の個人差に着目し、これらの差が DTX の血中濃度-時間曲線下面積 (area under the blood concentration-time curve, AUC) を変化させ、毒性発現プロファイルに差を生じさせることを報告している¹¹⁾。抗がん薬の効果や毒性の発現には薬物代謝酵素の遺伝子多型など薬物動態学的要因に加えて、薬力学的な要因も関与するとされている。近年、抗がん薬の効果に影響を及ぼす要因として、薬物動態および薬力学の双方に関連する遺伝的な応答性の違いを探索する研究が進んでいる。特に、プラチナ製剤のシスプラチンは、がん細胞内のデオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 鎖と結合し、DNA 合成およびそれに続くがん細胞の分裂を阻害すると考えられている。DNA 損傷の修復には DNA 損傷部位を認識し切断することにより修復を行うヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair, NER) をはじめ、塩基除去修復 (base excision repair, BER) が関与することが知られている。これらに加え DNA 複製中に生じた二本鎖切断の修復には、相同組換え (homologous recombination, HR) も関与していることが示唆されている¹²⁾。プラチナ製剤を含む化学療法を受けた非小細胞肺癌患者を対象とした臨床研究のシステマティックレビューでは、除去修復交差相補群 1/2 (excision repair cross-complementation group 1/2, ERCC1/2) と生存率との間に関連性があることが明らかとなっている¹³⁾。このように薬力学的な要因も DCF 療法の有害事象発現や腫瘍縮小効果に影響を及ぼす可能性がある。しかしながら、抗がん薬の応答性に影響する遺伝子多型と有害事象や腫瘍縮小効果との関連について、食道がん DCF 療法を対象とした検討はこれまでに行われていない。DCF 療法は今後、食道がんに対する術前化学療法の標準治療となることが期待されており、効果や有害事象発現に影響を及ぼす遺伝子多型を含めた影響因子を事前に把握することの意義は大きいと考える。

本研究では、薬理遺伝学的手法を用いて DCF 療法の毒性発現や治療効果の個人差要因を解明し、薬物療法の個別化を目的とした臨床研究の結果をまとめたものである。

第1章 食道がん DCF 療法施行患者を対象とした発熱性好中球数減少症発現の予測因子の解析

第1節 序論

がん化学療法の施行により、好中球数の減少をきたした患者は発熱する危険性が高い。好中球数が減少した際に感染を起こし、発熱をきたした場合には、急速な症状の悪化を認め、重症化して死に至る危険性が高い。そのため、本症状を FN と定義し、さまざまな国や地域で学会主導のガイドラインが作成され対処方法が定められている^{14, 15)}。

FN 発現の予測因子に関する先行研究は多く行われている⁵⁾。FN の発現に関わる因子は、治療側の因子と患者側の因子の 2 つに大きく分けられる。治療側の因子としては、治療レジメンやスケジュールが挙げられ、治療強度の高いレジメンは、より重篤な骨髄抑制を引き起こし、FN の発現率が高くなることが予想される。各ガイドラインでは、FN 発現率が 20%以上のレジメンに対しては、顆粒球コロニー形成刺激因子（granulocyte colony stimulation factor, G-CSF）製剤を一次予防として投与することを推奨している^{14, 15)}。食道がんに対する術前 DCF 療法は第 II 相試験において FN 発現率が 2.4%であることが報告されており⁴⁾、ガイドラインでは G-CSF 製剤を一次予防として投与することを推奨していない。一方で、DCF 療法によるグレード 3 以上の好中球数減少の発現率は 83%であるため、予防的抗菌薬の内服が推奨されており、DTX 投与開始の 5 日目から 15 日目までの期間にシプロフロキサシンまたはレボフロキサシンの内服が行われている。また、患者側の因子としては、年齢、パフォーマンスステータス（performance status, PS）（表 1）、貧血、低栄養状態、特定の薬物に対する遺伝的な応答性の違いなどが挙げられている⁵⁾。FN は、持続的な好中球数の低下に加え、病原細菌に感染するという外的要因も加わることで発症するとされており、患者の栄養状態や衛生状態、生活環境が影響する可能性が日常の診療からも推測される。

抗がん薬治療を受ける前に、重篤な有害事象が発現しやすい患者を予測することができれば、悪心・嘔吐に対する支持療法薬の追加投与の提案、下痢、口腔粘膜炎症、好中球数減少の発現時期に合わせた来院日の指定など、薬剤師ががん医療に貢献できる部分は多いと考える。

本章では診療録データを活用し、食道がん術前 DCF 療法が施行された患者の初回化学療法後の臨床的に疑わしい FN（clinical suspected FN, csFN）の発現率を評価し、治療開始前の患者背景情報から csFN 発現の予測因子を明らかにすることを目的とした検討を行った。

第2節 方法

2-1. 対象患者

2009年7月から2015年1月までに国立がん研究センター東病院消化管内科において、食道がんと診断され、術前 DCF 療法が施行された患者を診療録データより抽出した。抽出された症例のうち、以下に示す選択基準を満たし、かつ除外基準に抵触しない患者を解析対象とした。本研究は、単施設における後方視的観察研究として実施した。

本研究は、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認を得て実施された。
(承認番号 2015-088)

選択基準

- ・日本食道学会編：臨床・病理 食道癌取扱規約第11版による臨床病期が c-stage がⅡからⅣa の患者

除外基準

- ・過去に抗がん薬治療を施行している患者
- ・DTX、シスプラチン、5-フルオロウラシルのいずれかの薬剤が減量して投与されている患者
- ・予防的内服抗菌薬がプロトコルの規定通りに処方されていない患者
- ・DCF 療法施行後、好中球数減少前に予防的 G-CSF 製剤が投与された患者
- ・PS が2以上の患者

表1 East Cooperative Oncology Group の PS の日本語訳

Score	定義
0	全く問題なく活動できる。 発病前と同じ日常生活が制限なく行える。
1	肉体的に激しい活動は制限されるが、歩行可能で、軽作業や座っての作業は行うことができる。 例：軽い家事、事務作業
2	歩行可能で自分の身の回りのことはすべて可能だが作業はできない。 日中の50%以上はベッド外で過ごす。
3	限られた自分の身の回りのことしかできない。日中の50%以上をベッドか椅子で過ごす。
4	全く動けない。 自分の身の回りのことは全くできない。完全にベッドか椅子で過ごす。

2-2. 治療

食道がん術前 DCF 療法の投与スケジュールを表2に示した。1日目に DTX 70 mg/m²を1時間かけて、シスプラチン 70 mg/m²を2時間かけて静脈内投与を行った。1日目から5日目まで5-フルオロウラシル 750 mg/m²を持続静脈内投与で行

い、1 コース 3 週として行った。本治療では、予防的抗菌薬として 5 日目から 15 日目までシプロフロキサシン 1 回 200 mg 1 日 3 回またはレボフロキサシン 1 回 500 mg 1 日 1 回の処方を行った。

表 2 ドセタキセル、シスプラチン、5-フルオロウラシル療法

						3 週間ごと
1 コース	1	2	3	4	5	6~21 (日)
シスプラチン 70 mg/m ² /日 点滴静注 (2 時間)	↓					
ドセタキセル 70 mg/m ² /日 点滴静注 (1 時間)	↓					休薬
5-フルオロウラシル 750 mg/m ² /日 持続点滴静注 (24 時間)	↓	↓	↓	↓	↓	

5 日目から 15 日目までシプロフロキサシンまたはレボフロキサシンの予防内服

2-3. 評価方法

対象患者はすべて入院で化学療法を施行し、1 コース終了後退院前または退院後に採血が実施された。退院後は週 1 回程度外来受診し経過観察を行った。発熱などの副作用症状が生じた場合は来院し適切な対応を行った。本研究では、DCF 療法投与後の初回の採血結果を評価採血とし、好中球数の評価は National Cancer Institute の有害事象共通用語基準 v4.0 (Common Toxicity Criteria for Adverse Events version 4.0, CTCAE v4.0) を用いてグレード評価を行った¹⁶⁾ (表 3)。

本検討では、FN に関する 2 つのエンドポイントを設定し、1 つを日本臨床腫瘍学会のガイドラインで規定する FN (definite FN: dFN) : ① 好中球数が 500 /μL 未満、または 1,000 /μL 未満で 48 時間以内に 500 /μL 未満に減少すると予測される状態で、かつ② 腋窩温 37.5℃以上 (口腔内温 38.0℃以上) の発熱を生じた場合とした。もう 1 つは、臨床的に疑わしい FN (clinical suspected FN, csFN) : dFN の患者に加え、腋窩温で 37.5℃以上の発熱かつグレード 3 の好中球数減少があり、FN 発現時の対応に準じて静脈内への抗菌薬の投与を開始した場合と定義した。

表 3 CTCAE v4.0 による好中球数減少の評価

CTCAE v4.0 Term	CTCAE v4.0 Term 日本語	グレード 1	グレード 2	グレード 3	グレード 4
Neutrophil count decreased	好中球数 減少	< LLN-1,500/ μ L	<1,500-1,000/ μ L	<1,000-500/ μ L	<500/ μ L

Abbreviations: LLN, lower limit of normal

2-4. 統計解析

調査項目は治療開始前の患者情報として、年齢、性別、壁深達度（cT 因子）、リンパ節転移（cN 因子）、c-stage、組織型、原発部位、食道狭窄の有無（正常な内視鏡が病変部位を通過しなかった場合を食道狭窄有と定義）、糖尿病の有無、Body Mass Index（BMI）、血清アルブミン値（Albumin, Alb）、血清ヘモグロビン値（Hemoglobin, Hb）、居住環境について国立がん研究センター東病院の診療録データを用いて調査を行った。

csFN 発現患者と非発現患者の比較を行うために、連続変数は Mann-Whitney U 検定を、カテゴリー変数はカイ二乗検定またはフィッシャーの正確確率検定を用いて解析を行った。さらに、単変量ロジスティック回帰分析および多変量解析を行い、dFN および csFN を発症するオッズ比（odds ratio, OR）とその 95%信頼区間（confidence interval, CI）を算出し、単変量解析で $P < 0.20$ となった変数に対して多変量解析を行った。すべての検定は両側検定で行い、 P 値が 0.05 未満を統計学的に有意とした。また、すべての解析は IBM SPSS Statistics version 22.0（IBM Japan Ltd., Tokyo, Japan）を使用して行った。

第 3 節 結果

3-1. 患者背景

対象期間中に DCF 療法を受けた患者は 141 名であった。除外基準を考慮した結果、調査対象患者は 128 名であった。DCF 療法開始前の患者背景を表 4 に示した。年齢中央値（範囲）は、63（34–75）歳であり、全ての患者の PS は 0 または 1 であった。対象患者の多くは男性（88.3%）であり、腫瘍の大きさは T3 症例が 111 名（86.7%）と最も多かった。18 名（14.1%）の患者で食道狭窄があった。38 名（29.7%）の患者は、遠隔転移がなく切除可能なリンパ節転移を有する stage IV であった。組織型は、111 名（86.7%）が扁平上皮がん（squamous cell carcinoma, SCC）であり、腺がん（adenocarcinoma, AC）は 17 名（13.3%）であった。原発巣の多くは中部または下部食道がんであった。糖尿病を合併している患者は 13 名（10.2%）であり、8 名（6.2%）の患者は化学療法施行前に独居であった。

表 4 投与開始前の患者背景

患者背景	患者数	%
年齢 中央値（範囲）	63.0 (34–75)	
性別		
男性	113	88.3
女性	15	11.7
cT 因子		
T1	11	8.6
T2	6	4.7
T3	111	86.7
cN 因子		
N0	7	5.5
N1	59	46.1
N2	47	36.7
N3	15	11.7
c-stage		
II	14	10.9
III	76	59.4
IV	38	29.7
組織型		
AC	17	13.3
SCC	111	86.7
原発部位		
上部	19	14.8
中部	51	39.8
下部	58	45.3
食道狭窄		
あり	18	14.1
なし	110	85.9
糖尿病		
あり	13	10.2
なし	115	89.8
BMI (kg/m ²)		
中央値（範囲）	22.3 (13.6–38.4)	
Alb (g/dL)		
中央値（範囲）	4.2 (2.8–5.4)	
Hb (g/dL)		
中央値（範囲）	13.9 (8.7–17.1)	
居住環境		
独居	8	6.2
同居	120	93.8

Abbreviations: cT, clinical tumor; cN, clinical lymph node; AC, adenocarcinoma; SCC, squamous cell carcinoma; BMI, body mass index; Alb, albumin; Hb, hemoglobin

3-2. 好中球数減少と FN の発現率

好中球数減少と dFN、csFN の発現率を表 5 に示した。72 名（56.3%）の患者でグレード 3 またはグレード 4 の好中球数減少が発現した。グレード 4 の好中球数減少を発現した患者は 128 名のうち 29 名（22.7%）であった。また、csFN を発現した患者は 26 名（20.3%）、dFN と診断された患者は 14 名（10.9%）であった。dFN および csFN の投与初日からの発現日中央値（範囲）はともに 9（7-10）日であった。本研究に組み入れられた患者で治療関連死に至った患者はいなかった。

表 5 好中球数減少と FN の発現率

	発現人数 (%)	投与初日からの発現日 中央値（範囲）（日）
グレード 3/4 好中球数減少	72 (56.3)	9 (7-15)
グレード 4 好中球数減少	29 (22.7)	9 (7-11)
dFN	14 (10.9)	9 (7-10)
csFN	26 (20.3)	9 (7-10)

Abbreviations: dFN, definite febrile neutropenia; csFN, clinical suspected febrile neutropenia

3-3. csFN 発現患者と非発現患者の治療前患者背景の比較

csFN 発現患者と csFN 非発現患者の治療前の患者背景を表 6 に示した。csFN 発現患者の年齢中央値は 64.0 歳であったのに対し、csFN の非発現患者は 62.5 歳であり、csFN 発現患者に高齢者が多い傾向がみられた（ $P = 0.080$ ）。また、独居患者で csFN 発現患者は 15.4%であったのに対し、csFN 非発現患者は 3.9%であり、独居の患者で csFN を発現しやすい傾向がみられた（ $P = 0.053$ ）。

表 6 csFN 発現患者と非発現患者の治療前患者背景

	csFN 発現患者 (<i>n</i> = 26)		csFN 非発現患者 (<i>n</i> = 102)		<i>P</i> 値
	患者数	%	患者数	%	
年齢					0.006
中央値 (範囲)	64.0 (34–75)		62.5 (36–75)		
性別					
男性	21	80.8	92	90.2	0.186
女性	5	19.2	10	9.8	
cT 因子					0.821
T1	3	11.5	8	7.8	
T2	1	3.9	5	4.9	
T3	22	84.6	89	87.3	
cN 因子					0.953
N0	2	7.7	5	4.9	
N1	12	46.2	47	46.1	
N2	9	34.6	38	37.3	
N3	3	11.5	12	11.8	
c-stage					0.708
II	4	15.4	10	9.8	
III	15	57.7	61	59.8	
IV	7	26.9	31	30.4	
組織型					0.337
AC	5	19.2	12	11.8	
SCC	21	80.8	90	88.2	
原発部位					0.435
上部	2	7.7	17	16.7	
中部	10	38.5	41	40.2	
下部	14	53.9	44	43.1	
食道狭窄					0.761
あり	4	15.4	14	13.7	
なし	22	84.6	88	86.3	
糖尿病					0.299
あり	4	15.4	9	8.8	
なし	22	84.6	93	91.2	

BMI					0.339
中央値（範囲）	22.9 (13.6–38.4)		22.2 (17.5–30.2)		
Alb 値（g/dL）					0.849
中央値（範囲）	4.1 (3.5–5.0)		4.2 (2.8–5.4)		
Hb 値（g/dL）					0.813
中央値（範囲）	13.8 (11.5–15.8)		13.9 (8.7–17.1)		
居住環境					0.053
独居	4	15.4	4	3.9	
同居	22	84.6	98	96.1	

Abbreviations: csFN, clinical suspected febrile neutropenia; cT, clinical tumor; cN, clinical lymph node; c-stage, clinical stage; AC, Adenocarcinoma; SCC, squamous cell carcinoma; BMI, body mass index; Alb, albumin; Hb, hemoglobin

3-4. csFN 発現の予測因子

csFN 発現に影響する因子の単変量、多変量解析結果を表 7 に示した。単変量解析の結果では、居住環境（独居）が csFN に影響する統計学的に有意な因子であった（OR 4.46, $P = 0.045$ ）。また、有意ではないものの、年齢（60 歳以上）と性別（男性）が $P < 0.20$ の因子として抽出された。居住環境および年齢、性別を含めた多変量解析の結果、年齢（60 歳以上）（OR 3.06, $P = 0.043$ ）と居住環境（独居）（OR 5.02, $P = 0.041$ ）が統計学的に有意な csFN 発現の予測因子であることが示された。また、dFN についても同様に解析を行った結果、単変量解析で統計学的に有意となる因子は存在しなかった。（表 8）

表 7 csFN 発現の予測因子の単変量解析と多変量解析

因子		単変量解析			多変量解析		
		オッズ比	95% 信頼区間	<i>P</i> 値	オッズ比	95% 信頼区間	<i>P</i> 値
年齢	60 ≤	2.82	0.99–8.09	0.053	3.06	1.04–9.07	0.043
性別	男性	0.46	0.14–1.48	0.190	0.41	0.12–1.44	0.164
cT 因子	T3–T4	0.80	0.24–2.71	0.724			
cN 因子	あり	0.36	0.06–2.30	0.282			
c-stage	III–IV	0.60	0.17–2.09	0.420			
組織型	SCC	1.79	0.57–5.62	0.322			
原発部位	上部	0.42	0.09–1.93	0.263			
食道狭窄	あり	1.14	0.34–3.82	0.828			
糖尿病	あり	1.88	0.53–6.66	0.329			
BMI (kg/m ²)	< 20	0.98	0.35–2.71	0.961			
Alb 値 (g/dL)	< 3.9	1.28	0.42–3.89	0.664			
Hb 値 (g/dL)	< 12	0.27	0.03–2.20	0.223			
居住環境	独居	4.46	1.03–19.2	0.045	5.02	1.07–23.6	0.041

Abbreviations: cT, clinical tumor; cN, clinical lymph node; c-stage, clinical stage; SCC, squamous cell carcinoma; BMI, body mass index; Alb, albumin; Hb, hemoglobin

表 8 dFN 発現の予測因子の単変量解析

因子		単変量解析		
		オッズ比	95% 信頼区間	P 値
年齢	60 ≤	2.22	0.59–8.41	0.240
性別	男性	0.43	0.11–1.77	0.242
cT 因子	T3–T4	0.51	0.13–2.07	0.348
c-stage	III–IV	1.67	0.20–13.9	0.633
組織型	SCC	0.47	0.06–3.85	0.483
原発部位	上部	0.41	0.05–3.34	0.405
食道狭窄	あり	2.86	0.79–10.4	0.110
糖尿病	あり	1.56	0.31–7.89	0.590
BMI (kg/m ²)	< 20	0.88	0.23–3.38	0.851
Alb (g/dL)	< 3.9	1.46	0.37–5.74	0.593
Hb (g/dL)	< 12	0.60	0.07–4.95	0.633
居住環境	独居	1.18	0.13–10.3	0.884

Abbreviations: cT, clinical tumor; c-stage, clinical stage; SCC, squamous cell carcinoma; BMI, body mass index; Alb, albumin; Hb, hemoglobin

第 4 節 考察

本研究では、食道がん DCF 療法を施行した患者の FN 発現に関する後方視的研究を行った。「発熱性好中球減少症 (FN) 診療ガイドライン」の定義に沿って FN と診断された患者 (dFN) と定義を満たしてはいないが臨床的に疑わしい FN と診断された患者 (csFN) の発現率を調査し、また、食道がん DCF 療法を施行した患者の csFN 発現の予測因子を解析した。その結果、「発熱性好中球減少症 (FN) 診療ガイドライン」¹⁷⁾で定める G-CSF 製剤の一次予防的投与の基準となる dFN の発症率 20%以上の発現は認められず、食道がん術前 DCF 療法において、G-CSF 製剤の一次予防的投与は不要であることが再認識された。しかしながらその一方で、全患者に対して DCF 療法投与開始 5 日目から 15 日目までの 11 日間、抗菌薬の予防的投与が行われていたにも関わらず、20%以上の患者で csFN を発症している実態が明らかになった。さらに、csFN の発現に影響する因子を解析したところ 60 歳以上の患者および独居の患者が csFN 発現の予測因子である可能性が示された。

本研究では、「発熱性好中球減少症 (FN) 診療ガイドライン」に定義された dFN に加え、臨床的に疑わしい FN として本研究で定義した csFN の発現率についても調査を行った。実臨床においては、FN の治療は、患者の症状や投与からの期間、最新の臨床検査情報から FN が強く疑われた場合に治療が開始されることが多い。例えば、好中球数が 500 /μL 未満で発熱を認めない無熱性好中球減少症に該当する症例や腋窩温が 37.5℃以上であっても好中球数が 500 /μL 以上あり 48 時間以内に 500 /μL 未満に減少すると予想されないような症例は、治験や臨床試験では FN と診断されない。しかし実臨床においては、臨床的判断に基づいて FN に準じた治療を開始することが多い。DCF 療法のような強い骨髄抑制を引き起こす治療レジメンの FN の発現を過小評価しないためにも、csFN の発現に影響する因子を明らかにする意義は大きいと考えられる。これまでの先行研究においても抗菌薬の予防投与により FN

の発現が低減されることが示されている^{18,19)}。今回の検討では、dFN の発現率は 10.9%であり、Hara らの第Ⅱ相試験の報告である 2.4%よりも高い発現率を示した。その理由として、限られた集団を対象とした臨床試験と比較して、日常臨床での対象患者は多岐にわたるため FN 発現率が高くなったと考えられる。現在のガイドラインでは、FN の発現率が 20%以上のレジメンに対しては G-CSF 製剤の予防的投与が推奨されている¹⁷⁾。DCF 療法の安全性を評価した第Ⅱ相試験では、グレード 3 以上の好中球数減少の発現頻度が 83%であったのに対し、FN 発現率は 3.1%と十分に発現を抑えることができている⁴⁾。この結果を受けて、G-CSF 製剤の一次予防的投与は不要であるが予防的抗菌薬の投与は必要であるとの判断に基づき、現在進行中の第Ⅲ相試験においても予防的抗菌薬を併用下で術前 DCF 療法の有用性評価が行われている³⁾。また、実臨床を後方視的に検討した本研究での FN 発現率は dFN では 10.9%、csFN に至っては発現率が 20.3%であり、臨床試験での FN 発現率よりも高頻度で発現していることが確認できる。これらの点を考慮すると、全症例に対して予防的に抗菌薬を投与するのではなく、FN 発現の予測因子を持つ患者を選定し、限定された集団に対して DCF 療法開始前に G-CSF 製剤の一次予防的投与を実施する治療戦略も実臨床において検討する意義があると考えられる。

本研究では 60 歳以上の患者と独居の患者の 2 つの因子が csFN 発現に影響する因子となることが示された。高齢者が FN 発現の予測因子であることは、がん種を問わず多く報告されている²⁰⁻²³⁾。先行研究において、がん種により高齢者の定義は異なり、血液がん患者を対象とした先行研究では 65 歳以上とし²²⁾、卵巣がん患者を対象とした先行研究では 60 歳以上を高齢者と定義している²³⁾。食道がん患者を対象とした高齢者と非高齢者の FN 発現の予測因子の先行研究はなく、本研究は固形がんを対象としているため後者の先行研究を引用し、高齢者の定義を 60 歳以上と設定した。高齢者が FN 発現の予測因子となる要因としては、薬物代謝能の低下²⁴⁾や免疫力の低下²⁵⁾が知られている。また、高齢に伴う腎機能低下もその要因の一つと考えられる。初回投与前の検査結果から、クレアチニンクリアランスの低い患者は、シスプラチンの減量が行われているため、本研究の対象患者からは除外されている。しかし、高齢に伴う腎機能低下により抗がん薬の排泄が遅延する可能性も考えられる。本研究においても、60 歳以上の患者では薬物代謝機能の低下、腎排泄の遅延により抗がん薬のクリアランスの低下が生じたため、好中球数が低下したことが考察される。発熱を伴う症状を呈するには好中球数の低下のみならず、病原細菌に感染するという外的要因も加わることでより発症する。高齢者は、加齢に伴い免疫を司る器官である胸腺が萎縮することが知られており²⁵⁾、感染のリスクが高まり FN が発症した可能性が考えられる。また、平成 30 年 4 月に厚生労働省保健局高齢者医療課から発出された「高齢者の特性を踏まえた保険事業ガイドライン」によると、要介護状態に至る前段階として位置付けられ状態をフレイルとし、早期からの支援が必要としている²⁶⁾。フレイルに陥る過程を示す負の循環をフレイルサイクルとし²⁷⁾、フレイルサイクルの至る要因は、低栄養、体重減少から始まり、サルコペニア、基礎代謝の低下、消費エネルギーの量の低下、食欲低下といった循環が起こると考えられている。食欲が低下することにより、さらに低栄養、体重減少となり負の循環が進むとされる。Fried LP らは、この食欲低下の社会的背景として独居や貧困をあげている²⁸⁾。そのため、独居の高齢者では食事摂取が満足にできず低栄養となり、それに伴って免疫力の低下を招き、csFN の発現率を高める可能性がある。近年、高齢者を取り巻く社会環境は変化している。世帯構成や生活環境の変化も著しく、少子高齢化や未婚者の増加に伴って、高齢者だけの世帯や独居の高齢者が増えている。「令和 3 年版高齢者白書（内閣府）」によると独居高齢者は、今後も増加し続けることが推計されている。また「超高齢社会における生活習慣病の研究と医療体制（日本学術会議 臨床医学委員会）」の報告では、独居高齢者では会話の頻度が

少なく、また生活環境、衛生環境が悪化しているケースも少なくないとされている。現在の日常診療では、医療従事者は、患者が退院した後の生活環境、衛生環境についての把握は十分にできていないのが現状である。本研究の限界としていくつかのことが挙げられる。本研究は単施設の研究であり、また症例数が少ないことが挙げられる。本研究の結果を一般化するためには、交絡因子をできるだけ除外し、多くの患者での検証が必要である。また、本研究は後方視的調査のため処方された抗菌薬の服薬アドヒアランスを確認していないことが考えられる。高齢者では加齢に伴う認知機能の低下が服薬アドヒアランスの低下を招くことなども指摘されており、本研究の対象集団においても高齢者では予防的抗菌薬のアドヒアランスが低下したことにより csFN が高率に発現した可能性も考えられる。

本研究では、実臨床において臨床試験で収集された FN の発現率よりも多くの患者が csFN として FN の準じた治療を行われている実態が明らかとなった。さらに、術前 DCF 療法において、60 歳以上の高齢者と独居であることが独立した csFN 発現の予測因子であることが示された。Lyman GH らによるシステマティックレビューでは FN 発現に関与する患者側の因子として、年齢、性別、PS、併存疾患、投与前の血球数、低栄養状態、特定の薬物に対する遺伝的な応答性の違いなどが指摘されている⁹⁾。しかしながら、本検討においては年齢以外の因子では有意な関連は認められなかった。今後は、これらの患者背景の因子に加え、薬物の応答性に関わる患者個々の遺伝的要因を含めた更なる検討が必要である。

第2章 食道がん DCF 療法において重篤な好中球数減少に関係する遺伝子多型の解析

第1節 序論

がん化学療法に伴って生じる好中球数の低下やそれに引き続いて発現する FN は、時として重篤な感染症に発展し、適切な対応を施さない場合には死に至ることも多いため、好中球数の管理は極めて重要である。好中球の低下に影響する患者側の要因として、年齢²⁹⁻³¹⁾、性別^{32,33)}、治療前の好中球数³⁴⁾、特定の薬物に対する遺伝的な応答性の違い⁸⁾などが指摘されている。第1章では、DCF 療法を施行した食道がん患者の背景情報から、csFN 発現の予測因子を探索し、60 歳以上の患者と独居の2つの因子が csFN 発現の予測因子であることを報告した。食道がんは男性患者が多いことから、独居の高齢者では、低栄養などによって免疫力が低下した状態が持続したことが感染の引き金になったと考察した。しかし、好中球数の低下から FN に至るまでの過程には生活環境や予防的に投与された抗菌薬の服薬アドヒアランス等さまざまな要因が関与することが知られている。また、実臨床において、FN 発現の高リスク患者を選別し、G-CSF 製剤の予防的投与の有無についての科学的な考察をするためには、客観的な数値評価が可能な好中球の低下に着目した検討が望ましい。したがって、DCF 療法施行時の FN 発現を予測するこれら2因子のみでは不十分である可能性があり、患者側の因子として遺伝的要因も含めた更なる検討が必要となる。Hara らの第Ⅱ相試験の結果を受けて実施された術前 CF 療法に対する DCF 療法または CF 療法と放射線の併用療法の優越性を検証した第Ⅲ相試験では、CF 療法が施行された患者群ではグレード3以上の好中球数減少は23%であったのに対し、DCF 療法では85%と大幅な増加が認められた⁹⁾。したがって、DCF 療法によって発生する重篤な好中球数減少の原因となる薬物は DTX であると推測される。また、本邦の DTX の承認用量は欧米よりも少ない。その理由として、Kenmotsu らは、日本人と欧米人との間には、DTX の細胞内への取り込みや排出に関与するトランスポーターや代謝酵素の活性に違いがあるため、DTX の AUC に変化が生じ、結果として好中球数減少などの用量依存的な有害事象の発現率に違いがみられたことを報告している¹¹⁾。

DTX は、肝取り込みトランスポーター (Organic anion transporting polypeptide, OATP) 1B3 トランスポーターによって細胞内に輸送される。その後、主要代謝酵素であるシトクローム P450 (cytochrome P450, CYP) 3A によって代謝を受け、Adenosine triphosphate-binding cassette (ABC) B1、ABCC2、ABCG2 などのトランスポーターを介して排出される (図1)。そのため、薬物動態に関連するこれらのトランスポーターや代謝酵素活性の個人差により毒性の発現に違いが生じることが考えられる。

Solute Carrier Organic Anion Transporter (SLCO)1B3 遺伝子は OATP1B3 をコードする遺伝子で、DTX の取り込みに関わっている³⁵⁾。rs11045585 (*SLCO1B3* IVS12-5676A>G) は rs12762549 (*ABCC2* 9861014 G>C) と同様に、DTX 誘発性のグレード3以上の白血球減少および好中球数減少との強い関連が報告されている³⁶⁾。

CYP3A5 は薬物代謝酵素の1つであり、ドセタキセルの代謝には主に CYP3A4/5 が関与している。rs776746 (*CYP3A5* 6986A>G) は異常スプライシングによるタンパク質の欠損を引き起こすことで、不活性化をもたらすことが報告されている³⁷⁾。Glutathione-S-transferase (GST) は生体の解毒機能に関与する第Ⅱ相抱合代謝酵素で、アルファ (α)、ミュー (μ)、パイ (π)、シータ (θ) の4種類のアイソザイムが命名されている^{38,39)}。GST-μ をコードする *GSTM1* と GST-θ をコードする *GSTT1* には、それぞれ遺伝子配列が欠損する多型 (null 変異型) が存在する⁴⁰⁾。また、GST-π をコードする *GSTP1* 遺伝子には、その活性を低下させる rs1695 が存

在し、105 位のイソロイシンがバリンに置換されることで疎水性基質結合部位に影響を与えることが報告されている⁴¹⁾。

ABCB1 遺伝子は P 糖タンパク (P-glycoprotein, P-gp) をコードしており、P-gp は胆汁分泌後の薬物の再吸収を調節することにより、DTX の糞便排泄における主要な役割を果たしている⁴²⁾。rs1128503 (*ABCB1* 1236C>T)、rs2032582 (*ABCB1* 2677G>T/A)、rs1045642

(*ABCB1* 3435C>T) は、白人や日本人に変異が多いことが知られている⁴³⁾。*ABCB1* 遺伝子のエクソン 12 に位置する rs1128503 はアミノ酸置換を伴わないサイレント変異である。エクソン 21 に位置する rs2032582 は 893 位のアラニンがセリンまたはスレオニンに置換される遺伝子多型であり、P-gp の輸送機能を減少させることが報告されている⁴⁴⁾。日本人を対象とした研究では rs2032582 において、ホモ野生型、ヘテロ変異型、ホモ変異型の順に P-gp の発現レベルが低下したことが報告されている⁴⁵⁾。エクソン 26 に位置する rs1045642 は、アミノ酸置換を伴わないサイレント変異であるが、十二指腸における P-gp 発現量の低下および P-gp の基質薬であるジゴキシシン血漿中濃度の上昇に關与するという報告がある⁴⁶⁾。

ABCC2 遺伝子は multidrug resistance protein 2 (MRP2) をコードしており、MRP2 は DTX の細胞外排出に關与している⁴⁷⁾。rs12762549 (*ABCC2* 9861014 G>C) は、日本人を対象とした研究で、DTX 誘発性のグレード 3 以上の白血球減少および好中球数減少との強い關連が報告されている³⁶⁾。

ABCG2 遺伝子は breast cancer resistance protein (BCRP/*ABCG2*) をコードしている。これは小腸、結腸、腎臓および肝臓などの組織に発現しているトランスポーターであり、様々な薬物の排出において重要な役割を果たしている⁴⁸⁾。これまでに実施された研究において、rs2231137 (*ABCG2* 34G>A) と rs2231142 (*ABCG2* 421C>A) の 2 つの遺伝子多型はアジア人で変異の頻度が高いことが示されている⁴⁹⁾。rs2231137 はエクソン 2 に位置しており、12 位のバリンがメチオニンに置換される。ロスバスタチンを経口投与した中国人男性を対象とした研究では、rs2231137 AA かつ rs2231142 CC である群は rs2231137 GG かつ rs2231142 AA である群よりも最高血中濃度と AUC が有意に高くなるという結果が示されている⁵⁰⁾。エクソン 5 に位置する rs2231142 は 141 位のグルタミンがリジンへ置換される一塩基多型で、小胞体の BCRP2 の安定性に影響を与え、その発現を低下させる可能性があることが報告されている⁵¹⁾。

DTX の代謝や排泄に關与するこれら酵素やトランスポーターの機能低下が DTX の体内動態に影響を及ぼし、結果として毒性の発現に結びつく可能性があることから、薬物動態關連の遺伝子多型は検討すべき重要な因子と考えられている。前述したように、DCF 療法で重篤な好中球数減少が高頻度に発現する主要因として重要な役割を果たしているのは DTX であると考えられる。DTX の細胞内への取り込みや排出を担うトランスポーターや代謝酵素の機能の違いによって、DTX の体内動態が影響することが考えられ、本章では DCF 療法施行食道がん患者を対象として、グレード 3 以上の好中球数減少の発現を予測する遺伝的因子を探索することを目的とした検討を行った。

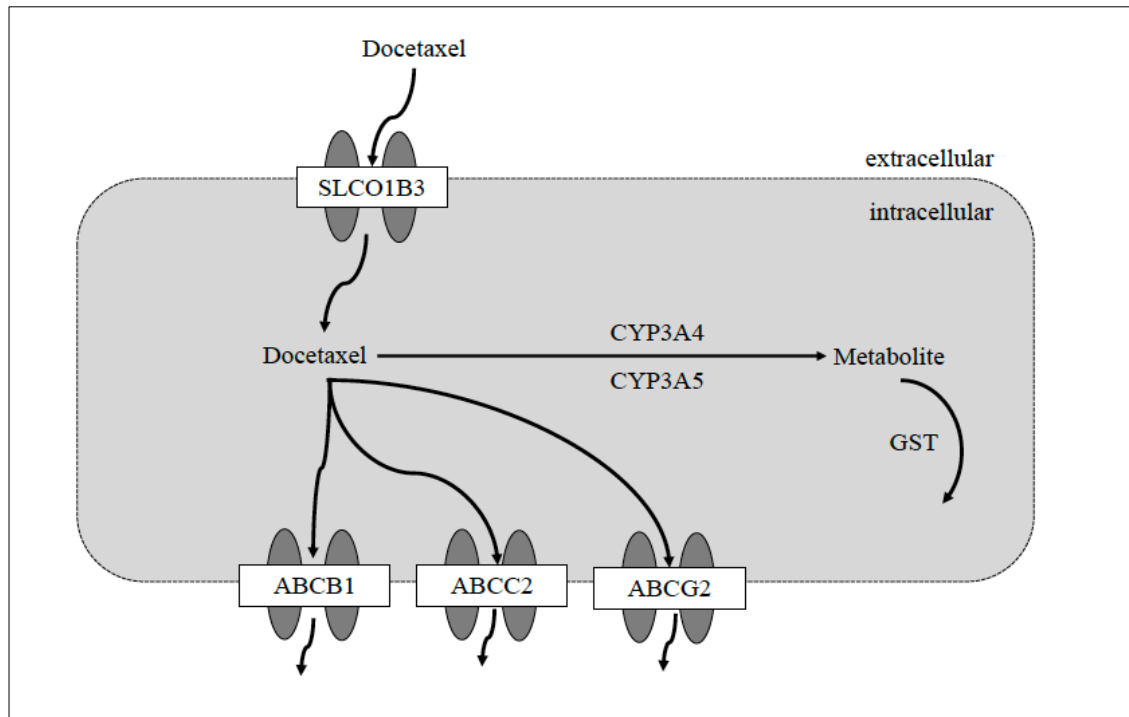


図1 ドセタキセルの薬物動態経路

第2節 方法

2-1. 対象患者

2011年8月から2016年12月までに国立がん研究センター東病院消化内科において、食道がんと診断され、術前DCF療法が施行された患者を診療録データより抽出した。抽出された症例のうち、国立がん研究センターバイオバンク説明文書「診療目的で採取された血液・組織等の研究用保管と、研究用採血による医学研究へのご協力をお願い（ナショナルセンター・バイオバンク・ネットワークプロジェクト）」を用いた説明を受け、「研究のための採血と、それに付随する診療・予後情報を保管（バイオバンク保管）し、医学研究（遺伝子解析や、民間企業による研究開発を含む。但し個人を特定する情報が国立がん研究センター外に提供されることはない）に利用されること」に、文書で同意した患者を対象とした。バイオバンク検体は匿名加工情報にしたうえで静岡県立大学に搬送し、同機関において遺伝子多型解析を実施した。

食道がん術前DCF療法は、第1章（表2）に準じたスケジュールで行われた。本治療では、予防的抗菌薬として5日目から15日目までシプロフロキサシン 200 mg 1回1錠1日3回またはレボフロキサシン 500 mg 1日1回の処方を行った。

本研究は、国立がん研究センター研究倫理審査委員会、の承認を得て実施された（承認番号2016-384）。なお、本研究計画において遺伝子多型解析の実施については、静岡県立大学研究倫理審査委員会の承認のもと実施された。

2-2. 患者選択と調査項目

選択基準

- ・食道癌取扱規約による c-stage II からIVa の患者

除外基準

- ・過去に抗がん薬治療を施行している患者
- ・DTX、シスプラチン、5-フルオロウラシルのいずれかの薬剤が減量して投与されている患者
- ・予防的内服抗菌薬がプロトコルの規定通りに処方されていない患者
- ・DTX 投与後 7 日目から 14 日目の期間に採血が実施されていない患者
- ・DCF 療法施行後、好中球数減少前に予防的 G-CSF 製剤が投与された患者
- ・上記バイオバンクの同意を得られていない患者

評価項目

DCF 療法初回施行後、7 日目から 14 日目におけるグレード 3 以上の好中球数減少の有無を主要評価項目とし、血液学的毒性は CTCAE v4.0 を用いて、好中球数減少のグレード評価を行った (表 3) ¹⁶⁾。好中球数が 1,000 / μ L 未満のグレード 3 および、好中球数が 500 / μ L 未満のグレード 4 を重篤な好中球数減少と定義した。投与後の好中球数と重篤な好中球数減少の発現に影響を与える可能性のある、性別、年齢、BMI、c-stage、組織型、原発部位、治療前の好中球数、Hb、Alb、アラニンアミノトランスフェラーゼ (alanine aminotransferase, ALT)、血清クレアチニン値 (serum creatinine, SrCr) については、国立がん研究センター東病院の診療録データを用いて調査を行った。

遺伝子多型解析

本研究では、術前 DCF 療法施行患者の薬物輸送体 (*SLCO1B3*、*ABCB1*、*ABCC2*、*ABCG2*)、薬物代謝酵素 (*CYP3A5*、*GST*) の遺伝子多型が、グレード 3 以上の重篤な好中球数減少の発現に及ぼす影響を検討した。*ABCG2* rs2231142 および *GST M1/T1* null を除くすべての多型は、制限酵素断片長多型 (PCR-RFLP) 解析によって決定された。*ABCG2* 421C>A はアレル特異的 PCR 法、*GST M1/T1* はマルチプレックス PCR 法で判定した。また、さらなる確認のために、代表的なサンプルを ABI 310 genetic analyzer (Applied Biosystems 社) を用いたダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を決定した。

2-3. 統計解析

単変量ロジスティック回帰分析を用い、解析した遺伝子多型とグレード 3 以上の重篤な好中球数減少との関連を評価した。単変量解析の結果、*P* 値が 0.05 未満となった遺伝子多型に加え、好中球数減少の発現予測因子であることが報告されている年齢、治療前好中球数を独立変数に、グレード 3 以上の重篤な好中球数減少の発現の有無を従属変数に組み込み、多変量ロジスティック回帰分析にて、グレード 3 以上の好中球数減少の発現に独立して寄与する因子について検討した。多変量ロジスティック回帰分析は強制投入法にて行い、OR および 95% CI を算出した。

また、グレード 3 以上の重篤な好中球数減少の発現予測因子の保有数の影響について検討するため、多変量解析の結果、*P* 値が 0.05 未満となった因子について、該当因子を保有する数ごとに群分けし、好中球数減少の発現割合を各群間で比較した。比較にはカイ二乗検定を用い、*P* 値、OR および 95%CI を算出した。多重比較はボンフェローニ法を用い、算出した *P* 値に比較した組み合わせの数を乗じることで *P* 値を算出した。

すべての検討は両側で行い、*P* 値が 0.05 未満の場合を統計学的に有意とした。また、すべての解析は IBM SPSS Statistics version 22.0 (IBM Japan Ltd., Tokyo, Japan) を使用して行った。

第3節 結果

3-1. 患者背景

対象期間中に DCF 療法を受けた患者は 211 名であった。除外基準に該当する患者を除外した結果、調査対象患者は 158 名であった。DCF 療法投与前の患者背景を表 9 に示した。年齢中央値（範囲）は 64（36–75）歳であり、全患者の PS は 0 または 1 であった。対象患者の多くは男性が 138 名（87.3%）であり、組織型は SCC が多くを占め、AC は 24 名（15.2%）であった。原発部位の多くは中部また下部食道がんであった。

表 9 投与前開始前の患者背景

	Total (N = 158)	
	n	%
年齢		
中央値（範囲）	64 (36–75)	
性別		
男性	138	87.3
女性	20	12.7
c-stage		
II	13	8.2
III	90	57.0
IV	55	34.8
BMI		
中央値（範囲）	22.0 (15.5–31.0)	
組織型		
AC	24	15.2
SCC	134	84.8
原発部位		
上部	26	16.5
中部	60	38.0
下部	72	45.6
治療前検査値		
好中球数 / μ L		
中央値（範囲）	4,425 (1,660–10,570)	
Hb g/dL		
中央値（範囲）	13.6 (8.7–17.1)	
Alb g/dL		
中央値（範囲）	4.2 (3.0–5.4)	
ALT U/L		
中央値（範囲）	17 (6–70)	
SrCr mg/dL		
中央値（範囲）	0.76 (0.3–1.2)	

Abbreviations: BMI, body mass index; AC, adenocarcinoma; SCC, squamous cell carcinoma;

Hb, hemoglobin; Alb, albumin; ALT, alanine aminotransferase; SrCr, serum creatinine

3-2. グレード3以上の重篤な好中球数減少発現患者と非発現患者

グレード3以上の重篤な好中球数減少発現患者と非発現患者の背景情報を表10に示した。81名（56.4%）の患者でグレード3以上の好中球数減少が発現した。2群間で有意差が認められたのは年齢、治療前好中球数であった。

表10 重篤な好中球数減少発現患者と非発現患者の治療前患者背景

	重篤な好中球数減少 発現患者 (n = 81)		重篤な好中球数減少 非発現患者 (n = 77)		P 値
	患者数	%	患者数	%	
性別					1.000
男性	71	87.7	67	87.0	
女性	10	12.3	10	13.0	
年齢					0.006
中央値（範囲）	65 (41–75)		62 (36–75)		
BMI					0.291
中央値（範囲）	21.5 (16.3–28.0)		22.3 (15.5–31.0)		
c-stage					0.631
II	6	7.4	7	9.1	
III	44	54.3	46	59.7	
IV	31	38.3	24	31.2	
組織型					0.659
AC	11	13.6	13	16.9	
SCC	70	86.4	64	83.1	
原発部位					0.321
上部	10	12.3	16	20.8	
中部	34	42.0	26	33.8	
下部	37	45.7	35	45.5	
治療前検査値					
好中球数 / μ L					0.001
中央値（範囲）	3,900 (1,660–9,840)		5,100 (2,400–10,570)		
Hb g/dL					0.704
中央値（範囲）	13.5 (9.4–17.1)		13.7 (8.7–16.9)		
Alb g/dL					0.600
中央値（範囲）	4.2 (3.3–4.9)		4.2 (3.0–5.4)		
ALT U/L					0.321
中央値（範囲）	17 (6–52)		16 (6–70)		
SrCr mg/dL					0.700
中央値（範囲）	0.74 (0.3–1.2)		0.77 (0.4–1.1)		

Abbreviations: BMI, body mass index; AC, adenocarcinoma; SCC, squamous cell carcinoma; Hb, hemoglobin; Alb, albumin; ALT, alanine aminotransferase; SrCr, serum creatinine

3-3. 単変量解析による重篤な好中球数減少発現患者と遺伝子型の関係

グレード3以上の重篤な好中球数減少発現の予測因子としての遺伝的要因を探索するために、DTXの薬物動態に関連する遺伝子多型を解析した。観察された遺伝子型の頻度はすべてHardy-Weinberg平衡にあることを確認した ($P > 0.05$)。

対象患者の遺伝子型を、ホモ野生型とそれ以外の2群 (dominant model) とホモ変異型とそれ以外の2群 (recessive model) の2つのグループに分け解析を行った。単変量解析の結果、*ABCB1* rs1045642におけるCT, TT型 (OR 2.10, $P = 0.027$)、*ABCC2* rs12762549におけるGG型 (OR 2.37, $P = 0.014$) が、グレード3以上の好中球数減少の発現に影響する遺伝的因子として抽出された (表11)。

表11 単変量解析によるグレード3以上の重篤な好中球数減少発現患者と遺伝子型の関係

重篤な好中球数減少 発現患者数 (%)			オッズ比	95% 信頼区間	P 値
ABCB1 rs1128503					
Dominant	CC (n = 29)	13 (44.8)	1.37	0.61–3.08	0.444
	CT and TT (n = 129)	68 (52.7)			
Recessive	TT (n = 61)	34 (55.7)	1.34	0.70–2.55	0.373
	CC and CT (n = 97)	47 (48.5)			
ABCB1 rs2032582					
Dominant	GG (n = 29)	12 (41.4)	1.32	0.72–3.68	0.241
	non-GG (n = 129)	69 (53.5)			
Recessive	TT, TA and AA (n = 48)	28 (58.3)	1.51	0.76–2.99	0.242
	others (n = 110)	53 (48.2)			
ABCB1 rs1045642					
Dominant	CC (n = 58)	23 (39.7)	2.10	1.09–4.06	0.027
	CT and TT (n = 100)	58 (58.0)			
Recessive	TT (n = 27)	15 (55.6)	1.23	0.54–2.83	0.625
	CC and CT (n = 131)	66 (50.4)			
ABCC2 rs12762549					
Dominant	GG (n = 52)	34 (65.4)	2.37	1.19–4.72	0.014
	GC and CC (n = 106)	47 (44.3)			
Recessive	CC (n = 31)	13 (41.9)	1.60	0.72–3.53	0.249
	GG and GC (n = 127)	68 (53.5)			
ABCG2 rs2231137					
Dominant	GG (n = 106)	49 (46.2)	1.86	0.95–3.66	0.072
	GA and AA (n = 52)	32 (61.5)			
Recessive	AA (n = 6)	6 (100.0)	NE	NE	0.999
	GG and GA (n = 152)	75 (49.3)			

<i>ABCG2</i> rs2231142					
Dominant	CC (n = 76)	38 (50.0)	1.10	0.59–2.06	0.759
	CA and AA (n = 82)	43 (52.4)			
Recessive	AA (n = 11)	7 (63.6)	1.73	0.49–6.15	0.400
	CC and CA (n = 147)	74 (50.3)			
<i>GSTM1/T1</i>					
Dominant	PP (n = 19)	10 (52.6)	0.94	0.36–2.45	0.899
	others (n = 139)	71 (51.1)			
Recessive	NN (n = 41)	25 (61.0)	1.70	0.82–3.51	0.150
	others (n = 117)	56 (47.9)			
<i>GSTP1</i> rs1695					
Dominant	AA (n = 116)	61 (52.6)	0.82	0.40–1.66	0.581
	AG and GG (n = 42)	20 (47.6)			
Recessive	GG (n = 5)	5 (100.0)	NE	NE	0.999
	AA and AG (n = 153)	76 (49.7)			
<i>SLCO1B3</i> rs11045585					
Dominant	AA (n = 120)	63 (52.5)	0.81	0.39–1.69	0.582
	AG and GG (n = 38)	18 (47.4)			
Recessive	GG (n = 6)	3 (50.0)	0.95	0.19–4.85	0.950
	AA and AG (n = 152)	78 (51.3)			

3-4. グレード3以上の重篤な好中球数減少発現の予測因子

単変量ロジスティック回帰分析で P 値が 0.05 未満であった 2 つの遺伝子多型 (*ABCB1* rs1045642、*ABCC2* rs12762549) に加えて、年齢と治療前の好中球数を含めた 4 つの因子を説明変数とした多変量解析を行った (表 12)。多変量解析の結果、年齢 (OR 1.05, $P = 0.022$)、治療前の好中球数 (OR 1.02, $P = 0.030$)、*ABCB1* rs1045642: CT or TT (OR 2.19, $P = 0.028$)、*ABCC2* rs12762549: GG (OR 2.34, $P = 0.026$) がグレード3以上の重篤な好中球数減少発現の予測因子であることが示された。

表 12 グレード3以上の重篤な好中球数減少発現の予測因子

	オッズ比	95% 信頼区間	P 値
年齢 (65 歳以上)	1.05	1.01–1.10	0.022
好中球数 / μL (4,255/ μL 未満)	1.02	1.00–1.04	0.030
<i>ABCB1</i> rs1045642 C>T: CT or TT	2.19	1.09–4.42	0.028
<i>ABCC2</i> rs12762549 G>C: GG	2.34	1.11–4.95	0.026

3-5. 予測因子保有数とグレード3以上の重篤な好中球数減少発現の関係

多変量解析の結果、遺伝的因子として *ABCB1* rs1045642、*ABCC2* rs12762549 の2因子、治療前の患者背景情報として年齢、好中球数の2因子、計4つの患者関連因子が、重篤な好中球数減少発現の独立した予測因子であることが示された。同定された4つの因子について、予測因子の保有数ごとに分類し、好中球数減少の発現割合との関連性を検討した。重篤な好中球数減少の頻度は、予測因子を1つも有さない患者では25.0%であったのに対し、予測因子の保有数が1つの患者では40.4%、2つの患者は40.7%、3つの患者は79.4%、4つの因子をすべて保有する患者では100%であることが示され、予測因子の数が多いほど、重篤な好中球数減少が発現しやすい結果が得られた（表13）。また、予測因子数を1つも保有しない患者と比較して、予測因子を3つまたは4つ保有する患者は、重篤な好中球数減少を発現する患者の割合が有意に高くなることが示された（OR 15.86, $P < 0.001$ ）（表13）。予測因子を1つだけ保有する患者のグレード3以上の重篤な好中球数減少発現割合は、年齢、好中球数、*ABCB1* rs1045642: CT or TT、*ABCC2* rs12762549: GGにおいて、それぞれ、33.3%、66.6%、39.1%、16.7%であった。また、予測因子を2つ保有する患者の組み合わせとグレード3以上の重篤な好中球数減少発現割合を表14に示した。65歳以上で*ABCC2* rs12762549 (GG) を持つ1名の患者が、グレード3以上の重篤な好中球数減少を発現しなかったため、予測因子を2つ保有する患者全体の発現割合を下げる結果になった。*ABCB1* rs1045642: CT or TT と *ABCC2* rs12762549 (GG) を持つ患者では、57.1%の患者で重篤な好中球数減少を発現し、予測因子を2つ保有する患者の組み合わせのなかで高い割合を示した。

表13 予測因子保有数とグレード3以上の重篤な好中球数減少発現の関係

予測因子 保有数	グレード3以上の重篤な 好中球数減少発現患者数 (%)	オッズ比	95% 信頼区間	P 値
0	3 (25.0)	1.00 (ref.)	—	—
1	19 (40.4)	2.04	0.49–8.51	0.506
2	22 (40.7)	2.00	0.49–8.22	0.512
3	27 (79.4)	11.57	2.46–54.45	0.001
4	10 (100)	NE	NE	< 0.001
3 and 4	37 (84.1)	15.86	3.41–73.69	< 0.001

Abbreviations: NE, not estimable

表14 予測因子を2つ保有したグレード3以上の重篤な好中球数減少発現割合

	年齢	好中球数	<i>ABCB1</i> rs1045642	<i>ABCC2</i> rs12762549
年齢 (65歳以上)	—	4/9 44.4%	5/15 33.3%	0/1 0%
好中球数 / μ L (4,255/ μ L 未満)	—	—	7/16 43.8%	2/6 33.3%
<i>ABCB1</i> rs1045642 C>T: CT or TT	—	—	—	4/7 57.1%
<i>ABCC2</i> rs12762549 G>C: GG	—	—	—	—

第4節 考察

本章ではDCF療法が施行された158名の食道がん患者を対象とし、DTXの薬物動態に関与する遺伝子多型と重篤な好中球数減少発現との関連を検討した。実臨床では、csFNとして緊急入院となる患者が多いことから、第1章では、患者背景因子からcsFN発現に影響する因子を探索することを目的とした研究を行った。しかし、好中球数の低下からFNに至るまでの過程には、さまざまな要因が関与することが知られている。そのため、本章では客観的な数値評価が可能な好中球の低下に着目した検討を行った。多変量解析の結果、既知の影響因子である年齢 (OR 1.05, $P=0.022$)、治療前の好中球数 (OR 1.02, $P=0.030$) に加えて、*ABCB1* rs1045642: CT or TT (OR 2.19, $P=0.028$)、*ABCC2* rs12762549: GG (OR 2.34, $P=0.026$) の2つの遺伝子多型が重篤な好中球数減少の発現の予測因子であることが示された。

DCF療法における好中球数減少は、DTXの影響を最も強く受けると考え、本章ではDTXの薬物動態に関連する遺伝子多型に着目した検討を行った。*ABCB1* rs1045642による薬物動態の変化⁵²⁾や有害事象との関連は、他がん種における先行研究で報告されている⁵³⁾。食道がんDCF療法を対象とした本検討においても、*ABCB1* rs1045642が有害事象に関連するといった同様の結果が示された。P-gpの基質薬であるDTXの代謝酵素や排出を担うトランスポーターには、多くの遺伝子多型が存在する。そのなかでも*ABCB1* rs1045642は、アミノ酸置換を伴わないサイレント変異であるが、P-gpのメッセンジャーリボ核酸 (messenger ribonucleic acid, mRNA) 発現や活性に大きな影響を及ぼすことから、これまで最も広く検討が行われてきた遺伝子多型である。この遺伝子多型によりP-gpの基質となる薬物の細胞外への排出能が低下し、用量依存的な有害事象である重篤な好中球数減少が強く発現することは以前から報告されている⁵⁴⁻⁵⁶⁾。また、*ABCB1* rs1045642は、P-gpの基質薬であるタキサン系抗がん薬投与患者の粘膜炎の発生頻度に影響を与えることが報告されており⁵³⁾、口腔粘膜炎の発生が、FN発現の予測因子であるとの報告もある⁵⁷⁾。すなわち、遺伝子多型による薬物動態の変化が、致命的な有害事象であるFNの発生に直接的あるいは間接的に影響を及ぼす可能性がある。本研究では、*ABCB1* rs1045642とともに*ABCC2* rs12762549も重篤な好中球数減少発現に独立して影響する遺伝的因子となることが示された。この結果は、がん種やレジメンを問わずに検討された日本人におけるDTXによる好中球の低下と*ABCC2*の遺伝子多型の関連性を示した先行研究の結果³⁶⁾と一致している。*ABCC2*を過剰発現させた上皮細胞を用いたin vitroの研究では、DTXの薬物動態に*ABCC2*が強く関与していることが報告されている⁵⁸⁾。したがって、*ABCC2*はDTXの排出に特に重要であると考えられており、遺伝子多型による*ABCC2*活性の低下がDTXの薬物動態に変化をもたらした可能性があると考えられる。

切除可能食道がん患者を対象とした本検討において、DTXによって引き起こされる重篤な好中球数減少の発現に関与する2つの遺伝的因子が明らかとなった。一般的には細胞障害性抗がん薬は体表面積により投与量が算出される。しかし、体表面積からの算出では、個々の患者の薬物の代謝や排泄機能は考慮されていない。そのため、体表面積による投与量補正にもかかわらず大きな個体間変動が認められ、患者によっては過量投与となることが懸念される。治療効果の個人差を決定し得る遺伝子多型の情報に基づいて治療計画の構築を目指す薬理遺伝学的手法は、個々の患者の至適投与量の決定に大きく寄与する可能性があり、治療効果や有害事象を予測する際に有益であると考えられている。これらの遺伝子多型とともに多変量解析において独立した因子となることが示されたDCF療法開始前の好中球数と年齢の2つの因子に関してもこれまでに報告された研究と一貫性のある結果が得られた^{29, 34, 59-61)}。さらに、本検討においては、明らかとなった4つの予測因子の保有数ごとに重篤な好中球数減

少の発現割合を算出したところ、予測因子なしでは 25.0%、予測因子 1 つでは 40.4%、予測因子 2 つでは 40.7%、予測因子 3 つでは 79.4%、4 つの予測因子をすべて持つ場合は 100%という結果であった。本章における検討では、治療開始前の患者背景因子に加えて、遺伝的因子を組み合わせることで重篤な好中球数減少の発現を高い精度で予測できることが示された。本研究によって同定された予測因子の保有数に基づき、化学療法開始前に重篤な好中球数減少の発現を予測することができれば、予測因子の保有数の多い患者に対して予防的に G-CSF 製剤を投与することが可能と考えられる。

現在のガイドラインでは、FN 発現率が 20%以上のレジメンに対する予防的 G-CSF 製剤の投与が推奨されている^{14,15)}。本研究の解析対象集団においても探索的に csFN の発現率を算出してみたところ、全患者に対して予防的に抗菌薬が投与されていたにも関わらず、DCF 療法開始から 1 コース以内に csFN が 19%の患者に発現していた。本検討では 1 コースでの評価を行ったため csFN の発現率は 20%には達していないものの、食道がんに対する術前 DCF 療法は通常 3 コース施行されるため、全コースで評価した場合、20%を超えると考えられる。DCF 療法では FN が高頻度に発現することが懸念されることから、ペグフィルグラスチムの一次予防的投与の意義を検討する第 II 相試験が実施され、その有用性を示唆する結果が報告されている⁶²⁾。その一方で、DCF 療法に対して予防的にペグフィルグラスチムが投与された群と非投与群で重篤な好中球数減少および FN の発現割合を比較した後方視的研究では、ペグフィルグラスチムの一次予防の効果に有益性が認められないことを示唆する結果も報告されている⁶³⁾。

本邦の医療費は年々増加傾向にあり、高薬価である G-CSF 製剤を DCF 療法施行全患者に投与する必要性はないと考える。G-CSF 製剤の一次予防的投与の判断基準として、現在のガイドラインでは 20%以上という FN 発現率が採用されているが、これには費用対効果などの医療経済学的な視点は含まれてはおらず、費用対効果を考慮した最近の研究ではこの 20%という閾値が適切ではないという指摘もある⁶⁴⁾。したがって、高薬価である G-CSF 製剤の予防的投与は、医療経済学的な観点からも必要最低限に留める必要があると考えられる。また、好中球数減少や FN に関しては、人種差の影響が大きく、東アジア人では重篤な好中球数減少や FN が顕著に発現することも報告されている¹¹⁾。そのため、本研究で実施した発現予測因子に基づいて G-CSF 製剤の予防的投与についての判断をする治療戦略は、今後、実臨床において DCF 療法を施行する患者にとって有用である可能性がある。したがって、G-CSF 製剤を投与すべき高リスク患者をどのように選択するのかを検討することが今後の重要な検討課題となる。近年公表された G-CSF 製剤の適正使用に関する調査においても、FN の発現リスクが高い患者への一次予防投与が増えているものの、中リスクである場合、どのような患者に対して使用すべきかの検討がさらに必要であると考察されている⁶⁵⁾。遺伝子多型解析コストは年々低減しており⁶⁶⁾、患者個々の遺伝子情報を活用した医療の臨床実装も現実のものになりつつある。今後は、遺伝子多型解析を実施せず、すべての患者に予防的 G-CSF 製剤の一次予防的投与を実施する場合と遺伝子多型解析を実施して高リスク患者を選別したうえで G-CSF 製剤の予防的投与を実施する場合とで費用対効果を分析する研究が必要であると考えられる。

本研究はいくつかの特質すべき点がある。1 つ目は、食道がん DCF 療法に対して、薬理遺伝学的な手法を用いて有害事象の発現予測因子を探索した初めての研究である。2 つ目は、本研究の対象患者は、進行・再発がん患者ではなく、切除可能な食道がん患者であり、多くの患者の PS は良好であった。そのため初回化学療法においては減量することなく投与され、先行研究と比較して統一された条件下で薬物応答性を評価することができた。3 つ目としては、本研究は後方視的研究ではあるが、設定した主要評価項目は、研究計画時に規定し

た範囲内（1 コース目の DCF 療法開始後 7 日から 14 日）での採血結果を用いたものであり、客観的な評価が可能であったことである。一方、本研究の限界としては以下の 2 つが挙げられる。1 つ目は本研究ではバイオバンク検体を用いた後方視的検討であるため、薬物動態のデータを得ることができなかった。そのため、本研究では、ABC トランスポーター遺伝子多型による重篤な好中球数減少発症の正確なメカニズムを解明するには至らなかった。2 つ目として、臨床的意義の高い FN ではなくグレード 3 以上の好中球数減少に設定した点である。第 1 章では、臨床現場で発症する csFN を評価項目として検討を行った。しかし、FN は抗がん薬投与によって好中球数が低下した状態に病原細菌に感染するという外的要因が加わることで発症する。そのため、薬物応答性を検討する研究においては、数値評価が可能な客観的な指標を用いた方がむしろ適切であると考え、本章ではグレード 3 以上の好中球数減少の有無を主要評価項目として検討した。第 1 章では、患者背景因子から csFN の予測因子を探索し、年齢と居住環境が csFN の危険因子である可能性が示唆された。本章においても既知の予測因子である年齢と投与前の好中球数を説明変数として多変量解析を行った結果、年齢が重篤な好中球数減少発現の予測因子であることが示され、高齢者は重篤な好中球数減少を発現し、さらに csFN も起こることが予想される。

本研究の結論として、*ABCB1* rs1045642 および *ABCC2* rs12762549 の 2 つの遺伝子多型が、グレード 3 以上の好中球数減少を予測する遺伝的因子となることが明らかとなった。さらに、年齢や治療前好中球数のような既知の因子に遺伝的因子を組み合わせることで重篤な好中球数減少の発現に対する精度の高い事前予測が可能となることが示唆された。本検討により得られたこれらの知見は今後、DCF 療法が施行される食道がん患者の日常臨床に貢献するものと期待される。

第3章 食道がん DCF 療法において腫瘍縮小効果に関係する遺伝子多型の解析

第1節 序論

がん化学療法に伴って生じる好中球数減少は、用量制限毒性となる重大な有害事象であることが古くから知られている。しかし、近年では重篤な好中球数減少の発現と抗がん薬の応答性との関連性についての報告が複数の固形がんで行なわれている⁶⁷⁻⁷³⁾。また、食道がん術前化学療法を対象とした先行研究においても重篤な好中球数の低下と腫瘍縮小効果が相関することが報告されている⁷⁴⁾。第2章では国立がん研究センターバイオバンクの保管検体を用いて、術前 DCF 療法を施行した食道がん患者を対象に、DTX の薬物動態に関わるトランスポーター等の遺伝子多型とグレード3以上の重篤な好中球数減少との関連を検討した。その結果、薬物動態に関連する *ABCB1* rs1045642 および *ABCC2* rs12762549 の2つの薬物動態関連の遺伝子多型が重篤な好中球数減少と関連するという新たな知見を得た。

近年では重篤な好中球数減少の発現は効果予測マーカーとなりうることが示唆されている。2000年代に入り、乳がん術後化学療法を対象とした臨床試験の事後解析により、好中球数減少の発現と長期生存との関連性が報告されたのを契機に、さまざまながん種を対象とした検討が行われ、好中球数減少の発現グレードに応じて生存期間が延長することや重篤な好中球数減少の発現が腫瘍縮小効果と関連することが相次いで報告された^{71, 72, 74, 75)}。これらの知見より、食道がんにおいても重篤な好中球数減少の発現が術前 DCF 療法の治療効果に有益な影響を及ぼす可能性が考えられる。したがって、第2章で明らかにした重篤な好中球数減少の発現に影響するこれらの薬物動態関連の遺伝子多型が、DCF 療法による腫瘍縮小効果に影響を及ぼす可能性があると考えた。

プラチナ製剤のシスプラチンは、がん細胞内の DNA 鎖と結合し、DNA 合成およびがん細胞の分裂を阻害する⁷⁶⁾。DNA の修復機能には、除去修復と複製後修復があり、前者では、DNA の損傷によって起こる NER や BER によって修復される。また、DNA 複製後に生じた二本鎖切断の修復には、HR が関与し、DNA 修復機構には複数の修復機能が関与していると考えられる¹²⁾。ERCC1/2 は NER の主要な核酸分解酵素であり、生体に備わる DNA 修復機構の1つである NER 経路において律速酵素として機能している⁷⁷⁾。NER 経路はプラチナ製剤に起因する DNA 損傷を修復するため、これらの遺伝子多型はプラチナ製剤による治療効果や予後と相関すると考えられている。X 線修復交差相補群 1 (X-ray repair cross-complementing group 1, XRCC1) は、DNA ポリメラーゼ β 、ポリ (アデノシン二リン酸-リボース) ポリメラーゼ、DNA リガーゼ III などのタンパク質と直接複合体を形成することで BER や一本鎖切断修復の過程を促進する重要な役割を担っている⁷⁸⁾。X 線修復交差相補群 3 (X-ray repair cross-complementing group 3, XRCC3) は、通常の代謝過程や放射線によって生じる DNA 二本鎖切断や鎖間架橋を修復し、HR を担う遺伝子ファミリーである⁷⁹⁾。XRCC3 は Rad51 と構造的、機能的に関連しており、Rad 51 は相同組換えにおいて重要な役割を果たしている。さらに、XRCC3 は、DNA 合成を遅延、修復部位に Rad 51 を動員することで、DNA 二本鎖切断に関与している⁸⁰⁾。

これらの DNA 修復機構の多型が、薬物の応答性や生存率に関与することが報告されている⁸¹⁻⁸⁵⁾。しかし、食道がん DCF 療法において抗がん薬の薬物動態または薬力学に関連する遺伝子多型が腫瘍縮小効果に及ぼす影響を検討した報告はない。そこで、本章では、術前 DCF 療法を施行した食道がん患者を対象として、腫瘍縮小効果に関連する遺伝子多型を探索することを目的とし、薬物動態に関連する遺伝子多型に加え、DNA 修復機構に関連する遺伝子多型の探索的検討を行った。

第2節 患者および方法

2-1. 対象患者

2011年8月から2016年12月までに国立がん研究センター東病院消化内科において、食道がんと診断され、術前DCF療法を施行した患者を診療録データより抽出した。抽出された症例のうち、国立がん研究センターバイオバンク説明文書「診療目的で採取された血液・組織等の研究用保管と、研究用採血による医学研究へのご協力をお願い（ナショナルセンター・バイオバンク・ネットワークプロジェクト）」を用いた説明を受け、「研究のための採血と、それに付随する診療・予後情報を保管（バイオバンク保管）し、医学研究（遺伝子解析や、民間企業による研究開発を含む。但し個人を特定する情報が国立がん研究センター外に提供されることはない）に利用されること」に、文書で同意した患者を対象とした。バイオバンク検体は匿名化したうえで静岡県立大学に搬送し、同機関において遺伝子多型解析を実施した。食道がん術前DCF療法は、第1章（表1）に準じたスケジュールで行われた。

本研究は、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の承認を得て実施された（承認番号2016-384）。なお、本研究計画において遺伝子多型解析の実施については、静岡県立大学研究倫理審査委員会の承認のもと実施された。

2-2. 患者選択と調査項目

選択基準

- ・食道癌取扱規約による c-stage II から IVa の患者

除外基準

- ・過去に抗がん薬治療されている患者
- ・DTX、シスプラチン、5-フルオロウラシルのいずれかの薬剤が減量して投与されている患者
- ・予防的内服抗菌薬がプロトコルの規定通りに処方されていない患者
- ・DCF療法施行後、好中球数減少前に予防的 G-CSF 製剤が投与された患者
- ・上記バイオバンクの同意を得られていない患者
- ・測定病変を持たない患者

評価項目

調査項目は治療開始前の患者情報として、年齢、性別、BMI、cT 因子、cN 因子、c-stage、組織型、原発部位、治療前の好中球数、Hb、Alb、ALT、SrCr については、国立がん研究センター東病院の診療録データを用いて調査を行った。

2-3. 腫瘍縮小効果

腫瘍縮小効果は、初回投与後にコンピューター断層撮影（Computed Tomography, CT）を用いて測定し、1名の腫瘍内科医が測定した。効果判定は、固形がんの治療効果判定のための新ガイドライン（Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST）version 1.1⁸⁶⁾に基づき、測定可能病変を評価した。腫瘍縮小効果を完全奏効（complete response, CR）、部分奏効（partial response, PR）、病勢安定（stable disease, SD）、病勢進行（progressive disease, PD）の4つに分類した。客観的奏効（CR または PR）が得られた患者を効果あり患者と定義し、SD または PD の患者を効果なし患者と定義した。また、RECIST version 1.1 の定義に従い、測定可能なリンパ節病変は、CT で評価した短軸の径が 15 mm 以上としているため、短軸の径が 15 mm より短いリンパ節病変は測定可能病変に含まれず評価対象外とした。

2-4. 遺伝子多型解析

本研究では、術前 DCF 療法施行患者の薬物輸送体 (*SLCO1B3*、*ABCB1*、*ABCC2*、*ABCG2*)、薬物代謝酵素 (*CYP3A5*、*GST*)、ヌクレオチド除去修復などの DNA 修復機構に関わる酵素 (*ERCC1*、*ERCC2*、*XRCC1*、*XRCC3*) の遺伝子多型が、腫瘍縮小効果に及ぼす影響を検討した。日本人の Hap-Map データで報告されているマイナーアレル頻度 0.01 以上の基準で、表 15 に示す代表的な 21 種の多型を選択した。*ABCG2* rs2231142 および *GST MI/TI* null を除くすべての多型は、PCR-RFLP 解析によって決定された。*ABCG2* rs2231142 はアレル特異的 PCR 法、*GST MI/TI* はマルチプレックス PCR 法で判定した。また、さらなる確認のために、代表的なサンプルを ABI 310 genetic analyzer (Applied Biosystems 社) を用いたダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を決定した。

表 15 解析対象遺伝子多型

<i>SLCO1B3</i> rs11045585 (A>G)	<i>CYP3A5</i> rs776746 (A>G)	<i>ERCC2</i> rs238406 (G>T)
<i>ABCB1</i> rs1128503 (C>T)	<i>GST P1</i> rs1695 (A>G)	<i>ERCC2</i> rs1799793 (G>A)
<i>ABCB1</i> rs2032582 (G>T/A)	<i>GST MI/TI</i> null	<i>XRCC1</i> rs25489 (G>A)
<i>ABCB1</i> rs1045642 (C>T)	<i>ERCC1</i> rs11615 (C>T)	<i>XRCC1</i> rs1799782 (C>T)
<i>ABCC2</i> rs12762549 (C>G)	<i>ERCC1</i> rs3212986 (C>A)	<i>XRCC3</i> rs861530 (A>G)
<i>ABCG2</i> rs2231137 (G>A)	<i>ERCC1</i> rs11615 (C>T)	<i>XRCC3</i> rs861539 (C>T)
<i>ABCG2</i> rs2231142 (C>A)	<i>ERCC2</i> rs13181 (T>G)	<i>XRCC3</i> rs1799794 (A>G)

2-5. 統計解析

連続変数は中央値（範囲）を記載し、分類されたデータは頻度（%）として示し、フィッシャーの正確検定を用いて比較した。非正規分布の変数のグループ間比較には、マン・ホイットニーの U 検定を用いた。単変量解析により、DCF 療法の初回投与後の腫瘍縮小効果から予測因子を特定した。21 個の遺伝子多型を識別し、これらの遺伝子多型と腫瘍縮小効果との関連を dominant model と recessive model の両方を用いて解析した。また、先行研究において術前化学放射線療法施行食道がん患者において、cT 因子と原発部位が効果予測因子であることが報告されている⁸⁷⁾ことから、単変量解析で $P < 0.05$ となった遺伝的因子に cT 因子および原発部位を強制投入法により独立変数として含め、多変量ロジスティック回帰分析を行った。さらに食道がん患者の DCF 療法に対する腫瘍縮小効果と関連する因子について、OR とその 95%CI および P 値を算出した。なお、本研究は、食道がんに対する遺伝子多型と DCF 療法の効果を検討した初めての研究であり、探索的研究と位置付けられるため、多重比較補正は行わなかった。 P 値が 0.05 未満の場合を統計学的に有意とした。また、すべての解析は IBM SPSS Statistics version 22.0 (IBM Japan Ltd., Tokyo, Japan) を使用して行った。

第3節 結果

3-1. 患者背景

対象期間中に DCF 療法を受けた患者の総数は 211 名であった。除外基準に該当する患者および測定可能病変を有さない 102 名を除外したところ 56 名が本研究の対象となった（図 2）。

対象患者の投与開始前の患者背景と腫瘍縮小効果を表 16 と表 17 に示した。PR と CR が得られた効果あり患者は 20 名であり、SD または PD の効果なし患者は 36 名であった。全体の年齢の中央値（範囲）は 64（41-75）歳であり、全ての患者の PS は 0 または 1 であった。組織型は、48 名（85.7%）が SCC であり、AC は 8 名（14.3%）であった。投与前の生化学および血液学的データで異常値を示した患者はなく、両群に有意差のある項目はなかった。

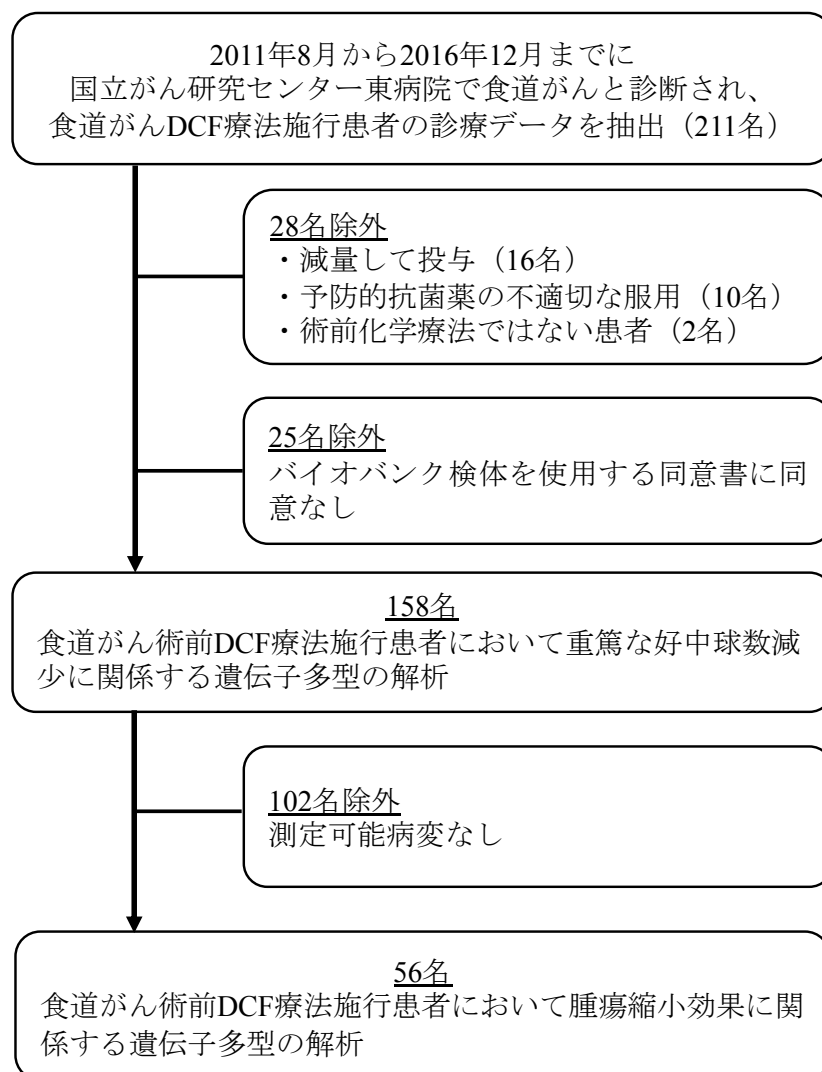


図2 研究対象患者

表 16 投与開始前の患者背景

	Total (N = 56)	
	N	%
年齢		
中央値（範囲）	64 (41–75)	
性別		
男性	51	91.1
女性	5	8.9
cT 因子		
T1	5	8.9
T2	0	0
T3	51	91.1
cN 因子		
N1	11	19.6
N2	27	48.2
N3	18	32.1
c-stage		
II	2	3.6
III	24	42.9
IV	30	53.6
BMI		
中央値（範囲）	22.3 (15.5–31.0)	
組織型		
AC	8	14.3
SCC	48	85.7
原発部位		
上部	10	17.9
中部	19	33.9
下部	27	48.2
治療前検査値		
好中球数 / μ L 中央値（範囲）	5,000 (1,760–10,370)	
Hb g/dL 中央値（範囲）	13.6 (8.7–17.1)	
Alb g/dL 中央値（範囲）	4.2 (3.0–4.8)	
ALT U/L 中央値（範囲）	17 (6–52)	
SrCr mg/dL 中央値（範囲）	0.75 (0.45–1.05)	

Abbreviations: BMI, body mass index; AC, adenocarcinoma; SCC, squamous cell carcinoma; Hb, hemoglobin; Alb, albumin; ALT, Alanine aminotransferase; SrCr, Serum Creatinine

表 17 治療開始前の患者背景と腫瘍縮小効果の関係

	効果あり (CR + PR) (n = 20)		効果なし (SD + PD) (n = 36)		P 値
	n	%	n	%	
年齢					0.421
中央値 (範囲)	63.5 (47–74)		64 (41–75)		
性別					1.000
男性	18	90.0	33	91.7	
女性	2	10.0	3	8.3	
BMI					0.505
中央値 (範囲)	22.7 (16.3–28.9)		22.3 (15.5–31.0)		
cT 因子					0.744
T1	1	5.0	4	11.1	
T2	0	0	0	0	
T3	19	95.0	32	88.9	
cN 因子					0.109
N1	6	30.0	5	13.9	
N2	6	30.0	21	58.3	
N3	8	40.0	10	27.8	
c-stage					0.626
II	1	5.0	1	2.8	
III	7	35.0	17	47.2	
IV	12	60.0	18	50.0	
組織型					0.118
AC	5	25.0	3	8.3	
SCC	15	75.0	33	91.7	
原発部位					0.404
上部	3	15.0	7	19.4	
中部	5	25.0	14	38.9	
下部	12	60.0	15	41.7	
治療前検査値 中央値					
好中球数 / μ L (範囲)	4,210 (2,250–10,190)		5,060 (1,760–10,370)		0.501
Hb g/dL (範囲)	13.6 (10.1–17.1)		13.6 (8.7–16.3)		0.600
Alb g/dL (範囲)	4.3 (3.3–4.8)		4.2 (3.0–4.7)		0.416
AST U/L (範囲)	18 (11–29)		18 (12–64)		0.939
SrCr mg/dL (範囲)	0.75 (0.49–1.05)		0.75 (0.45–0.94)		0.973

Abbreviations: CR, complete response; PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease; BMI, body mass index; cT, clinical tumor; c-stage, clinical stage; AC, Adenocarcinoma; SCC, Squamous Cell; Hb, hemoglobin; Alb, albumin; ALT, Alanine aminotransferase; SrCr, Serum Creatinine

3-2. 単変量解析による腫瘍縮小効果と遺伝子型の関係

術前 DCF 療法の腫瘍縮小効果に関与する遺伝的要因を探索するため、DTX とシスプラチンの薬物動態に関連する遺伝子ならびに薬力学に関連する遺伝子を解析した。観察された遺伝子型の頻度はすべて Hardy-Weinberg 平衡にあることが確認された ($P > 0.05$)。対象の遺伝子型を、ホモ野生型とそれ以外の 2 群 (dominant model) とホモ変異型とそれ以外 (recessive model) の 2 つのグループに分けて解析を行った。Dominant model と recessive model の単変量解析の結果および各遺伝子型グループで腫瘍縮小効果が得られた患者数、奏効率を表 18 に示した。解析した 21 遺伝子多型のうち、XRCC3 rs1799794 の dominant model にのみ腫瘍縮小効果との有意な関連が認められた (OR 0.24, $P = 0.033$)。

表 18 単変量解析による腫瘍縮小効果と遺伝子型の関係

		腫瘍縮小効果 (n)		奏効率 (%)	オッズ比 (95% 信頼区間)	P 値
		PD + SD	PR + CR			
<i>SLCO1B3</i> rs11045585 (A>G)						
Dominant	AA	32	15	31.9%	2.67 (0.63–11.48)	0.185
	non-AA	4	5	55.6%		
Recessive	GG	1	0	0.0%	NE	NE
	non-GG	35	20	36.4%		
<i>ABCB1</i> rs1128503 (C>T)						
Dominant	CC	6	3	33.3%	1.13 (0.25–5.12)	0.871
	non-CC	30	17	36.2%		
Recessive	TT	15	9	37.5%	0.87 (0.29–2.63)	0.809
	non-TT	21	11	34.4%		
<i>ABCB1</i> rs2032582 (G>T/A)						
Dominant	GG	6	3	33.3%	1.13 (0.25–5.12)	0.871
	non-GG	30	17	36.2%		
Recessive	TT, TA, AA	9	6	40.0%	0.78 (0.23–2.63)	0.686
	other	27	14	34.1%		
<i>ABCB1</i> rs1045642 (C>T)						
Dominant	CC	14	5	26.3%	1.91 (0.57–6.43)	0.296
	non-CC	22	15	40.5%		
Recessive	TT	5	2	28.6%	1.45 (0.26–8.27)	0.675
	non-TT	31	18	36.7%		
<i>ABCC2</i> rs12762549 (G>C)						
Dominant	GG	15	8	34.8%	1.07 (0.35–3.26)	0.903
	non-GG	21	12	36.4%		
Recessive	CC	18	13	41.9%	0.54 (0.17–1.66)	0.282
	non-CC	18	7	28.0%		

<i>ABCG2</i> rs2231137(G>A)						
Dominant	GG	26	12	31.6%	1.73 (0.55–5.50)	0.350
	non-GG	10	8	44.4%		
Recessive	AA	2	1	33.3%	1.12 (0.10–13.15)	0.930
	non-AA	34	19	35.8%		
<i>ABCG2</i> rs2231142 (C>A)						
Dominant	CC	19	9	32.1%	1.37 (0.46–4.09)	0.577
	non-CC	17	11	39.3%		
Recessive	AA	1	2	66.7%	0.26 (0.02–3.03)	0.281
	non-AA	35	18	34.0%		
<i>CYP3A5</i> rs776746 (G>A)						
Dominant	GG	23	12	34.3%	1.18 (0.38–3.63)	0.773
	non-GG	13	8	38.1%		
Recessive	AA	1	1	50.0%	0.54 (0.03–9.18)	0.672
	non-AA	35	19	35.2%		
<i>GST P1</i> rs1695 (A>G)						
Dominant	AA	26	14	35.0%	1.11 (0.34–3.71)	0.860
	non-AA	10	6	37.5%		
Recessive	GG	0	1	100.0%	NE	NE
	non-GG	36	19	34.5%		
<i>GST M1, T1</i> null						
Dominant	P/P	6	4	40.0%	0.80 (0.20–3.25)	0.755
	other	30	16	34.8%		
Recessive	N/N	27	17	38.6%	0.53 (0.13–2.24)	0.387
	Other	9	3	25.0%		
<i>ERCC1</i> rs3212986 (C>A)						
Dominant	CC	21	11	34.4%	1.15 (0.38–3.45)	0.809
	non-CC	15	9	37.5%		
Recessive	AA	2	1	33.3%	1.12 (0.10–13.15)	0.930
	non-AA	34	19	35.8%		
<i>ERCC1</i> rs11615 (C>T)						
Dominant	CC	18	12	40.0%	0.67 (0.22–2.02)	0.473
	non-CC	18	8	30.8%		
Recessive	TT	3	2	40.0%	0.82 (0.13–5.36)	0.834
	non-TT	33	18	35.3%		

<i>ERCC2</i> rs13181 (T>G)						
Dominant	TT	35	19	35.2%	1.84 (0.11–31.14)	0.672
	non-TT	1	1	50.0%		
Recessive	GG	0	0	0.0%	NE	NE
	non-GG	36	20	35.7%		
<i>ERCC2</i> rs238406 (G>T)						
Dominant	GG	8	5	38.5%	0.86 (0.24–3.09)	0.814
	non-GG	28	15	34.9%		
Recessive	TT	13	8	38.1%	0.85 (0.28–2.61)	0.773
	non-TT	23	12	34.3%		
<i>ERCC2</i> rs1799793 (G>A)						
Dominant	GG	36	19	34.5%	NE	NE
	non-GG	0	1	100%		
Recessive	AA	0	0	0%	NE	NE
	non-AA	36	20	35.7%		
<i>XRCC1</i> rs25487 (G>A)						
Dominant	GG	17	11	39.3%	0.73 (0.24–2.19)	0.577
	non-GG	19	9	32.1%		
Recessive	AA	5	0	0.0%	NE	NE
	non-AA	31	20	39.2%		
<i>XRCC1</i> rs25489 (G>A)						
Dominant	GG	25	18	41.9%	0.25 (0.50–1.28)	0.097
	non-GG	11	2	15.4%		
Recessive	AA	0	0	0.0%	NE	NE
	non-AA	36	20	35.7%		
<i>XRCC1</i> rs1799782 (C>T)						
Dominant	CC	18	10	35.7%	1.00 (0.34–2.98)	1.000
	non-CC	18	10	35.7%		
Recessive	TT	2	2	50.0%	0.53 (0.07–4.08)	0.541
	non-TT	34	18	34.6%		
<i>XRCC3</i> rs861530 (G>A)						
Dominant	GG	8	6	42.9%	0.67 (0.19–2.30)	0.521
	non-GG	28	14	33.3%		
Recessive	AA	10	6	37.5%	0.90 (0.27–2.99)	0.860
	non-AA	26	14	35.0%		

<i>XRCC3</i> rs861539 (C>T)						
Dominant	CC	32	18	36.0%	0.89 (0.15–5.34)	0.898
	non-CC	4	2	33.3%		
Recessive	TT	0	0	0.0%	NE	NE
	non-TT	36	20	35.7%		
<i>XRCC3</i> rs1799794 (A>G)						
Dominant	AA	5	8	61.5%	0.24 (0.07–0.89)	0.033
	non-AA	31	12	27.9%		
Recessive	GG	10	8	44.4%	0.58 (0.18–1.83)	0.350
	non-GG	26	12	31.6%		

3-3. 腫瘍縮小効果と臨床的症候の多変量解析

術前 DCF 療法の腫瘍縮小効果に影響することが考えられる cT 因子と原発部位を含めた多変量解析の結果を表 19 に示した。これらの潜在的な影響因子を調整した多変量解析の結果、*XRCC3* rs1799794 が食道がん患者における術前 DCF 療法の腫瘍縮小効果に影響する独立した予測因子であることが示された (OR 0.24, $P = 0.036$)。

表 19 腫瘍縮小効果と臨床的症候の多変量解析

	オッズ比	95% 信頼区間	<i>P</i> 値
壁進達度 (cT1–cT2/cT3)	2.42	0.23–25.47	0.463
原発部位 (上部/中部または下部)	1.08	0.23–5.07	0.925
<i>XRCC3</i> rs1799794 (AA/GA or GG)	0.24	0.07–0.91	0.036

3-4. *XRCC3* rs1799794 AA 保有患者の腫瘍縮小効果

対象患者 56 名の DCF 療法初回投与後の腫瘍縮小率を Waterfall プロットで図 3 に示した。腫瘍縮小効果は、RECIST version 1.1 に基づき測定可能病変を評価した。CR 患者は 0 名、PR 患者は 20 名 (35.7%)、SD 患者は 31 名 (55.4%)、PD 患者は 5 名 (8.9%) であった。初回投与後の腫瘍縮小効果の評価が行われた 56 名のうち 47 名 (83.9%) で治療前と比較して測定可能病変の縮小が認められた。また、*XRCC3* rs1799794 AA において、A アレルをホモ接合体で有する患者 13 名のうち 12 名 (92.3%) で治療前と比較して測定可能病変の縮小がみられることが確認された。

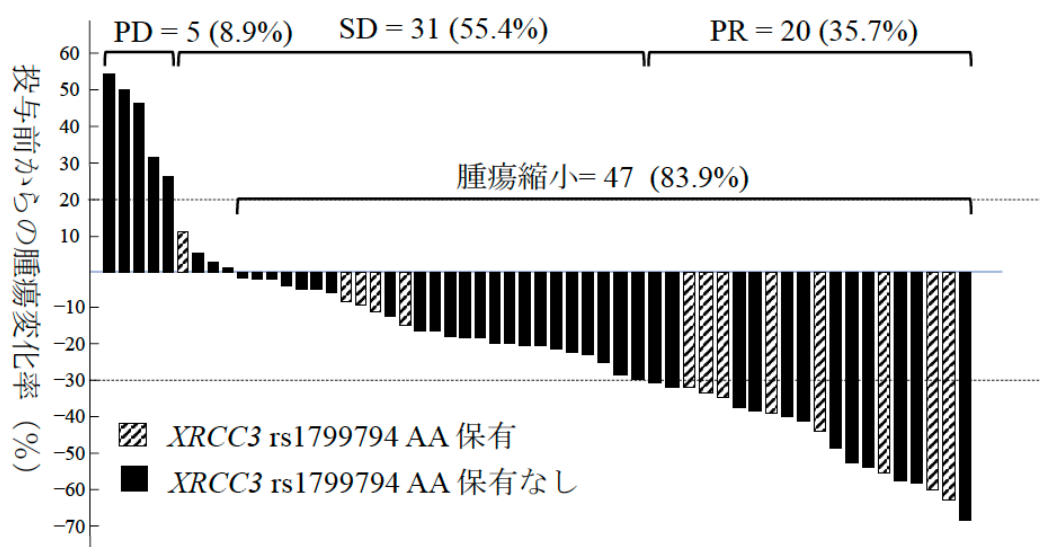


図 3 投与前からの腫瘍変化率と *XRCC3* rs1799794 AA 保有の割合
Abbreviations: PD, progressive disease; SD, stable disease; PR, partial response

3-5. 腫瘍縮小効果とグレード 3 以上の好中球数減少

測定可能病変を有する 56 名について、DCF 療法施行後に腫瘍縮小効果と好中球数減少発現との関係を表 20 に示した。初回投与後、効果あり (CR + PR) 患者でグレード 0 から 2 の好中球数減少の発現がみられた患者は 9 名 (36.0%)、グレード 3 または 4 の好中球数減少の発現がみられた患者は 11 名 (35.5%) であった。両群で発現率に相違はなく、腫瘍縮小効果とグレード 3 以上の好中球数減少発現との関連はみられなかった ($P = 0.968$)。

表 20 腫瘍縮小効果と好中球数減少発現患者の割合

	グレード 0 から 2 の 好中球数減少発現患者 (<i>n</i> = 25)		グレード 3 または 4 の 好中球数減少発現患者 (<i>n</i> = 31)		<i>P</i> 値
	患者数	%	患者数	%	
腫瘍縮小効果					0.968
効果あり (CR + PR)	9	36.0	11	35.5	
効果なし (SD + PD)	16	64.0	20	64.5	

Abbreviations: CR, complete response; PD, progressive disease; SD, stable disease; PR, partial response

第4節 考察

本章では DCF 療法が施行された標的病変のある 56 名の食道がん患者を対象とし、DCF 療法の薬物動態や感受性に関連する代表的な 21 の遺伝子多型と腫瘍縮小効果との関連を探索的に検討した。多変量解析の結果、*XRCC3* rs1799794 が、腫瘍縮小効果と有意な関連が示された唯一の遺伝子多型であった (OR 0.24, $P=0.033$)。第 2 章における検討で DTX の薬物動態に関わる遺伝子多型がグレード 3 以上の好中球数減少を予測する遺伝的要因であることを明らかにした。好中球数減少は DTX の用量制限毒性であり、さらにアジア人では欧米人に比べ発症率が高いことが報告されている¹⁰⁾。そこで今回、DTX の薬物動態に影響を与える遺伝子多型が、DCF 療法の腫瘍縮小効果に影響を与えるという仮説に基づき、薬理遺伝学的手法を用いた探索的研究を行った。しかし、予想に反して、第 2 章における検討でグレード 3 以上の好中球数減少との関連が示された 2 つの ABC トランスポーターの遺伝子多型

(*ABCB1* rs1045642 および *ABCC2* rs12762549) は、腫瘍縮小効果に影響を与えなかった。他の薬物動態に関連する遺伝子多型においても DCF 療法の腫瘍縮小効果に影響を与えるものはなかった。一方で、NER などの DNA 修復過程に関わる遺伝子多型も、抗がん薬による腫瘍縮小効果に影響することが知られている。先行研究では、DNA 修復機構に関わる *ERCC* 遺伝子や *XRCC* 遺伝子の多型が、プラチナ製剤を用いた化学療法や化学放射線療法による腫瘍縮小効果に影響を与えることが報告がされている^{84,88)}。本章では、NER および BER 経路に関わる遺伝子多型と DCF 療法の腫瘍縮小効果との関連性は認められず、HR に関与する *XRCC3* rs1799794 が腫瘍縮小効果に影響を及ぼす唯一の遺伝子多型である可能性が示唆された。*XRCC3* は Rad51 の DNA への結合を促進し、DNA の鎖間架橋の認識と修復に関与していることが報告されている⁸⁹⁾。また、機能解析により、*XRCC3* の過剰発現は Rad51C タンパク質レベルの上昇と関連しており⁹⁰⁾、DNA 損傷耐性と強い相関関係があることも示されている⁹¹⁾。本章で腫瘍縮小効果との関連が示された *XRCC3* rs1799794 は、*XRCC3* 遺伝子の ATG 開始コドンから 316bp 上流の 5'非翻訳領域に位置している。制御用リボ核酸モチーフの *in silico* 解析によると、この遺伝子多型は上流のオープンリーディングフレーム

(upstream open reading frame, uORF) の消失を引き起こすと推測されており、uORF の発現を制御することで翻訳制御に関与していることから、この多型は遺伝子発現に影響を与える可能性があると考えられている⁹²⁾。

本研究で DCF 療法の腫瘍縮小効果に影響を及ぼす可能性が示唆された *XRCC3* rs1799794 の臨床的有用性は、現時点においてはまだ明確ではない。しかし、テモゾロミド併用化学放射線療法を受けた膠芽腫患者を対象とした研究では、*XRCC3* rs1799794 の遺伝子変異が無増悪生存期間および全生存期間に影響を与えることが報告されている⁹³⁾。術前化学療法においては、腫瘍縮小効果を正確に予測することが可能なバイオマーカーの探索は重要な検討課題であり、臨床的な意義が高いと考えられる。

化学療法に対する腫瘍縮小効果は、体細胞遺伝子と生殖細胞系列遺伝子の両方の変異に影響されることが考えられている。Salnikova らは直腸がんおよび食道がんの術前化学療法において、体細胞および生殖細胞系列の遺伝子変異が腫瘍縮小効果に与える影響を評価した研究のシステマティックレビューを報告している⁹⁴⁾。食道がんに焦点を当てた統合解析の結果では、腫瘍縮小効果の予測が可能であった遺伝子多型は体細胞遺伝子である *TP53* の野生型のみであった。また、生殖細胞系列遺伝子を扱った研究は僅か 1 つであり、このシステマティックレビューでは統合解析を実施するまでには至っていない⁹⁴⁾。本研究では、生殖細胞系列の *XRCC3* 遺伝子多型が術前 DCF 療法に対して腫瘍縮小効果の予測因子であることが示され、生殖細胞系列遺伝子が腫瘍縮小効果に影響を与えることが示唆された。今後の食道がん治療の個別化を見据え、本研究によって腫瘍縮小効果と関連する可能性が示された *XRCC3*

遺伝子多型を含めたゲノムバイオマーカー研究のさらなる発展が望まれる。

本研究の限界としては以下の2つが挙げられる。1つ目は、サンプルサイズが小さいことである。本研究では2011年8月から2016年12月までの期間にDCF療法が施行された全患者を対象として調査を行ったが、実施計画書作成時では対象症例が100名程度になることを想定していた。しかしながら、測定可能病変を有する患者は想定よりも大幅に少なく、最終的に解析に含まれたのは56名であった。また、本検討ではサンプル数が少ないため一部の遺伝子多型においてマイナーアレルのホモ接合体を持つ患者がいなかった。そのため、これらの遺伝子多型においては腫瘍縮小効果へ及ぼす影響についての評価が十分にできていない可能性がある。2つ目は、CTによる効果判定のタイミングを1コース終了後に限定したことである。本研究は初回投与後の評価に基づいているが、本来、術前DCF療法は3コース終了後に手術を行う治療スケジュールである。3コース施行した患者の腫瘍縮小効果、無病生存期間、全生存期間などを主要評価項目として設定する方が臨床的意義は高い可能性もある。しかし、先行研究で3コースを減量なく完遂した患者は全患者の17%のみ⁴⁾であったことを考慮し、また、本研究の位置付けをDCF療法と腫瘍縮小効果との関係性を評価するための探索的研究としたため、本研究では腫瘍縮小効果を判定のするタイミングを1コース終了後とする研究計画とした。3コース終了後の腫瘍縮小効果を評価した場合、1コースあるいは2コース終了後にPD判定により中止となった患者やCRが得られたことにより手術に移行した患者が除外され、DCF療法と腫瘍縮小効果との関係を正確に評価することがより困難になった可能性もある。したがって、本研究では腫瘍縮小効果の評価を1コース終了後に行うことで腫瘍縮小効果と遺伝子多型との関係を正しく評価することができたと考える。

本研究は食道がんDCF療法を対象として、腫瘍縮小効果に影響する遺伝的因子を検討した初めての報告である。結論として、本研究では、DNA修復経路における生殖細胞系列のXRCC3 rs1799794 遺伝子多型が、術前DCF療法施行患者の腫瘍縮小効果に影響を与える可能性を示唆した。本研究は、バイオバンク検体のDNAサンプルを使用した少数例の後方視的探索的研究である。今後、食道がんDCF療法におけるXRCC3 遺伝子多型の臨床的意義を明らかにするには、別のコホートでの検証的な研究および症例数を増やした前向き臨床研究の実施が必要となる。

総括

本研究では DCF 療法が施行された食道がん患者を対象とし、有害事象ならびに腫瘍縮小効果の予測因子を探索することを目的とした。

第 1 章では、対象患者 128 名に対して、年齢、性別、壁深達度、リンパ節転移、臨床病期、組織型、原発部位、食道狭窄の有無、糖尿病の有無、治療開始前の臨床検査値、居住環境についての調査を実施し、csFN の発現に影響する因子の解析を行った。多変量解析の結果、年齢 (OR 3.06, $P=0.043$) と居住環境 (独居) (OR 5.02, $P=0.041$) が統計的に有意となり、年齢が高いことと独居であることの 2 つが csFN 発現の独立した予測因子であることが示された。

第 2 章では、対象患者 158 名に対して、DTX の薬物動態に関与する遺伝子多型とグレード 3 以上の重篤な好中球数減少の発現との関連を検討した。単変量解析の結果、*ABCB1* rs1045642 (OR 2.10, $P=0.027$)、*ABCC2* rs12762549 (OR 2.37, $P=0.014$) が関連性を示す遺伝的因子として抽出された。抽出された 2 つの遺伝子多型に加えて、既知のリスク因子である年齢²⁹⁻³¹⁾、治療前好中球数³⁴⁾を共変量に組み込んだ多変量解析の結果、*ABCB1* rs1045642: CT or TT (OR 2.19, $P=0.028$)、*ABCC2* rs12762549: GG (OR 2.34, $P=0.026$) の 2 つの遺伝子多型がグレード 3 以上の好中球数減少の発現の予測因子であることが示された。同定された 4 つの因子について、予測因子の保有数ごとに分類し、好中球数減少の発現割合との関連性を検討した。その結果、グレード 3 以上の好中球数減少の頻度は、予測因子を 1 つも有さない患者では 25.0%であったのに対し、予測因子の保有数が 1 つの患者では 40.4%、2 つの患者は 40.7%、3 つの患者は 79.4%、4 つの因子をすべて保有する患者では 100%であることが示され、予測因子の保有数が多いほど、重篤な好中球数減少が発現しやすいことが明らかとなった。

第 3 章では、第 2 章の対象患者のうち、測定可能病変を持つ 56 名の患者に対して、DCF 療法の薬物動態や感受性に関連する代表的な 21 の遺伝子多型と RECIST version 1.1 に沿って評価された 1 コース後の腫瘍縮小効果との関連を探索的に検討した。*XRCC3* rs1799794: AA が、腫瘍縮小効果と有意な関連が示された唯一の遺伝子多型であった (OR 0.24, $P=0.033$)。また、*XRCC3* rs1799794 において、A アレルをホモ接合体で有する患者 13 名のうち、12 名 (92.3%) で治療前と 1 コース後の測定可能病変を比較した結果、測定可能病変の縮小がみられることが確認された。

本研究において得られた結果を用いることで、DCF 療法開始前にグレード 3 以上の好中球数減少症発現の事前予測が可能となり、治療開始前に G-CSF 製剤の予防的投与の有無を判断する根拠として活用できる可能性がある。実臨床において、DCF 療法を施行する際に G-CSF 製剤を投与すべき高リスク患者をどのように選択するのかを検討することが今後の重要な検討課題となる。検査機器の進歩により遺伝子多型解析コストは年々低減しており⁶⁶⁾、患者個々の遺伝子情報を活用した医療の臨床実装も現実のものになりつつある。現在、がん治療における抗がん薬選択にはバイオマーカーに基づく個別化医療が急速な進展を遂げている。副作用対策においても個々の患者に最適な治療薬選択が可能となる個別化医療が近い将来、臨床実装されることを念頭におき、本研究の結果が、食道がん患者に対する個別化された支持療法の実践の一助となることを期待する。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始懇切丁寧なご指導、ご鞭撻を賜りました静岡県立大学大学院 薬学研究院 臨床薬効解析学講座 教授 伊藤 邦彦先生に深く感謝の意を表します。

本論文の審査にあたり、有益なご助言を賜りました静岡県立大学大学院 薬学研究院 臨床薬剤学講座 教授 賀川 義之先生、静岡県立大学大学院 薬学研究院 分子病態学講座 教授 森本 達也先生、静岡県立大学大学院 薬学研究院 実践薬学講座 教授 内田 信也先生、静岡県立大学大学院 薬学研究院 臨床薬効解析学講座 准教授 井上和幸先生に厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行に際し、数々のご助言、ご協力を賜りました静岡県立大学大学院 薬学研究院 臨床薬効解析学講座 講師 辻 大樹先生に深く感謝いたします。

ならびに本研究にご協力頂きました国立がん研究センター東病院 薬剤部 齋藤 真一郎先生（現 有限会社さど調剤さくら薬局畑野）、山口 正和先生（現 がん研究会有明病院 薬剤部）、川崎 敏克先生、望月 伸夫先生、牧 陽介先生（現 国立病院機構 小倉医療センター）、田中 将貴先生、出町 健先生、国立がん研究センター東病院 消化管内科 小島 隆嗣先生、鳩貝 健先生（現 メルクセローノ株式会社）、国立がん研究センター東病院 消化管内視鏡科 矢野 友規先生、国立がん研究センター東病院 食道外科 大幸 宏幸先生（現 国立がん研究センター中央病院 食道外科）、国立がん研究センター東病院 病理・臨床検査科 藤井 誠志先生（現 横浜市立大学大学院医学研究科・医学部 分子病理学）に厚く御礼申し上げます。

本研究にご協力頂き、検体を提供して頂きました患者の皆様、ご家族の方々に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 国立研究開発法人国立がんセンター. "がん情報サービス ":
<<https://ganjoho.jp/public/index.html>>. accessed 26 Mar 2022.
- 2) Ando N, Kato H, Igaki H, Shinoda M, Ozawa S, Shimizu H, Nakamura T, Yabusaki H, Aoyama N, Kurita A, Ikeda K, Kanda T, Tsujinaka T, Nakamura K, Fukuda H: A randomized trial comparing postoperative adjuvant chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil versus preoperative chemotherapy for localized advanced squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus (JCOG9907). *Ann Surg Oncol*, **19**, 68-74 (2012).
- 3) Nakamura K, Kato K, Igaki H, Ito Y, Mizusawa J, Ando N, Udagawa H, Tsubosa Y, Daiko H, Hironaka S, Fukuda H, Kitagawa Y, Japan Esophageal Oncology Group/Japan Clinical Oncology G: Three-arm phase III trial comparing cisplatin plus 5-FU (CF) versus docetaxel, cisplatin plus 5-FU (DCF) versus radiotherapy with CF (CF-RT) as preoperative therapy for locally advanced esophageal cancer (JCOG1109, NExT study). *Jpn J Clin Oncol*, **43**, 752-755 (2013).
- 4) Hara H, Tahara M, Daiko H, Kato K, Igaki H, Kadowaki S, Tanaka Y, Hamamoto Y, Matsushita H, Nagase M, Hosoya Y: Phase II feasibility study of preoperative chemotherapy with docetaxel, cisplatin, and fluorouracil for esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci*, **104**, 1455-1460 (2013).
- 5) Lyman GH, Abella E, Pettengell R: Risk factors for febrile neutropenia among patients with cancer receiving chemotherapy: A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol*, **90**, 190-199 (2014).
- 6) Sugishita M, Imai T, Kikumori T, Mitsuma A, Shimokata T, Shibata T, Morita S, Inada-Inoue M, Sawaki M, Hasegawa Y, Ando Y: Pharmacogenetic association between GSTP1 genetic polymorphism and febrile neutropenia in Japanese patients with early breast cancer. *Breast Cancer*, **23**, 195-201 (2016).
- 7) Alberti P, Cavaletti G: Management of side effects in the personalized medicine era: chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Methods Mol Biol*, **1175**, 301-322 (2014).
- 8) Tsuji D, Ikeda M, Yamamoto K, Nakamori H, Kim YI, Kawasaki Y, Otake A, Yokoi M, Inoue K, Hirai K, Nakamichi H, Tokou U, Shiokawa M, Itoh K: Drug-related genetic polymorphisms affecting severe chemotherapy-induced neutropenia in breast cancer patients: A hospital-based observational study. *Medicine (Baltimore)*, **95**, e5151 (2016).
- 9) Kato K, Ito Y, Daiko H, Ozawa S, Ogata T, Hara H, Kojima T, Abe T, Bamba T, Watanabe M, Kawakubo H, Shibuya Y, Tsubosa Y, Takegawa N, Kajiwarra T, Baba H, Ueno M, Machida R, Nakamura K, Kitagawa Y: A randomized controlled phase III trial comparing two chemotherapy regimen and chemoradiotherapy regimen as neoadjuvant treatment for locally advanced esophageal cancer, JCOG1109 NExT study. *J Clin Oncol*, **20**, 238 (2022).
- 10) Yano R, Konno A, Watanabe K, Tsukamoto H, Kayano Y, Ohnaka H, Goto N, Nakamura T, Masada M: Pharmacoethnicity of docetaxel-induced severe neutropenia: integrated analysis of published phase II and III trials. *Int J Clin Oncol*, **18**, 96-104 (2013).
- 11) Kenmotsu H, Tanigawara Y: Pharmacokinetics, dynamics and toxicity of docetaxel: Why the Japanese dose differs from the Western dose. *Cancer Sci*, **106**, 497-504 (2015).
- 12) Martin LP, Hamilton TC, Schilder RJ: Platinum resistance: the role of DNA repair pathways. *Clin Cancer Res*, **14**, 1291-1295 (2008).

- 13) Yang Y, Xian L: The association between the ERCC1/2 polymorphisms and the clinical outcomes of the platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biol*, **35**, 2905-2921 (2014).
- 14) Hwang S, Kwon KT, Kim Y, Bae S, Chang HH, Kim SW, Yoo SS, Nam SY, Baek JH: Usefulness analysis of the 2018 ASCO/IDSA guideline for outpatient management of fever and neutropenia in adults treated for malignancy. *Sci Rep*, **11**, 9048 (2021).
- 15) de Naurois J, Novitzky-Basso I, Gill MJ, Marti FM, Cullen MH, Roila F, Group EGW: Management of febrile neutropenia: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol*, **21 Suppl 5**, v252-256 (2010).
- 16) "有害事象共通用語規準 v4.0 日本語訳 JCOG 版 (略称: CTCAE v4.0 - JCOG) より引用、改変 JCOG ホームページ <http://www.jcog.jp/> accessed 26 Mar 2022."
- 17) 日本臨床腫瘍学会. 発熱性好中球減少 (FN) ガイドライン. 南江堂, 東京 (2017).
- 18) Engels EA, Lau J, Barza M: Efficacy of quinolone prophylaxis in neutropenic cancer patients: a meta-analysis. *J Clin Oncol*, **16**, 1179-1187 (1998).
- 19) Bucaneve G, Micozzi A, Menichetti F, Martino P, Dionisi MS, Martinelli G, Allione B, D'Antonio D, Buelli M, Nosari AM, Cilloni D, Zuffa E, Cantaffa R, Specchia G, Amadori S, Fabbiano F, Deliliers GL, Lauria F, Foa R, Del Favero A, Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto Infection P: Levofloxacin to prevent bacterial infection in patients with cancer and neutropenia. *N Engl J Med*, **353**, 977-987 (2005).
- 20) Lyman GH: Impact of chemotherapy dose intensity on cancer patient outcomes. *J Natl Compr Canc Netw*, **7**, 99-108 (2009).
- 21) Rajan SS, Stearns SC, Lyman GH, Carpenter WR: Effect of primary prophylactic G-CSF use on systemic therapy administration for elderly breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*, **130**, 255-266 (2011).
- 22) Salar A, Haioun C, Rossi FG, Duehrsen U, Pettengell R, Johnsen HE, Jaeger U, Verhoef G, Schwenkglenks M, Bacon P, Bendall K, Lugtenburg PJ: The need for improved neutropenia risk assessment in DLBCL patients receiving R-CHOP-21: findings from clinical practice. *Leuk Res*, **36**, 548-553 (2012).
- 23) Laskey RA, Poniewierski MS, Lopez MA, Hanna RK, Secord AA, Gehrig PA, Lyman GH, Havrilesky LJ: Predictors of severe and febrile neutropenia during primary chemotherapy for ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, **125**, 625-630 (2012).
- 24) Greenblatt DJ, Harmatz JS, Shapiro L, Engelhardt N, Gouthro TA, Shader RI: Sensitivity to triazolam in the elderly. *N Engl J Med*, **324**, 1691-1698 (1991).
- 25) Utsuyama M, Hirokawa K, Kurashima C, Fukayama M, Inamatsu T, Suzuki K, Hashimoto W, Sato K: Differential age-change in the numbers of CD4+CD45RA+ and CD4+CD29+ T cell subsets in human peripheral blood. *Mech Ageing Dev*, **63**, 57-68 (1992).
- 26) 高齢者の特性を踏まえた保健事業ガイドライン第2版. (厚生労働省保険局高齢者医療課, p. 6 (2019)).
- 27) Xue QL, Bandeen-Roche K, Varadhan R, Zhou J, Fried LP: Initial manifestations of frailty criteria and the development of frailty phenotype in the Women's Health and Aging Study II. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, **63**, 984-990 (2008).
- 28) Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, Seeman T, Tracy R, Kop WJ, Burke G, McBurnie MA, Cardiovascular Health Study Collaborative Research G: Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, **56**, M146-156

- (2001).
- 29) Lyman GH, Lyman CH, Agboola O: Risk models for predicting chemotherapy-induced neutropenia. *Oncologist*, **10**, 427-437 (2005).
 - 30) Rabinowitz AP, Weiner NJ, Tronic BS, Fridman M, Liberman RF, Delgado DJ: Severe neutropenia in CHOP occurs most frequently in cycle 1: a predictive model. *Leuk Lymphoma*, **47**, 853-858 (2006).
 - 31) Schwenkglenks M, Pettengell R, Jackisch C, Paridaens R, Constenla M, Bosly A, Szucs TD, Leonard R: Risk factors for chemotherapy-induced neutropenia occurrence in breast cancer patients: data from the INC-EU Prospective Observational European Neutropenia Study. *Support Care Cancer*, **19**, 483-490 (2011).
 - 32) Lambert LA, Armstrong TS, Lee JJ, Liu S, Katz MH, Eng C, Wolff RA, Tortorice ML, Tansey P, Gonzalez-Moreno S, Lambert DH, Mansfield PF: Incidence, risk factors, and impact of severe neutropenia after hyperthermic intraperitoneal mitomycin C. *Ann Surg Oncol*, **16**, 2181-2187 (2009).
 - 33) Watanabe H, Ikesue H, Oshiro M, Nagata K, Mishima K, Takada A, Suetsugu K, Sueyasu M, Egashira N, Harada T, Takayama K, Nakanishi Y, Oishi R: Risk factors for predicting severe neutropenia induced by amrubicin in patients with advanced lung cancer. *Chemotherapy*, **58**, 419-425 (2012).
 - 34) Hirasawa Y, Nakashima J, Sugihara T, Takizawa I, Gondo T, Nakagami Y, Horiguchi Y, Ohno Y, Namiki K, Ohori M, Tachibana M: Development of a Nomogram for Predicting Severe Neutropenia Associated With Docetaxel-Based Chemotherapy in Patients With Castration-Resistant Prostate Cancer. *Clin Genitourin Cancer*, **15**, 176-181 (2017).
 - 35) Smith NF, Acharya MR, Desai N, Figg WD, Sparreboom A: Identification of OATP1B3 as a high-affinity hepatocellular transporter of paclitaxel. *Cancer Biol Ther*, **4**, 815-818 (2005).
 - 36) Kiyotani K, Mushiroda T, Kubo M, Zembutsu H, Sugiyama Y, Nakamura Y: Association of genetic polymorphisms in SLCO1B3 and ABCC2 with docetaxel-induced leukopenia. *Cancer Sci*, **99**, 967-972 (2008).
 - 37) Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, Maurel P, Relling M, Brimer C, Yasuda K, Venkataramanan R, Strom S, Thummel K, Boguski MS, Schuetz E: Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*, **27**, 383-391 (2001).
 - 38) Meyer DJ, Coles B, Pemble SE, Gilmore KS, Fraser GM, Ketterer B: Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man. *Biochem J*, **274 (Pt 2)**, 409-414 (1991).
 - 39) Mannervik B, Alin P, Guthenberg C, Jansson H, Tahir MK, Warholm M, Jornvall H: Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **82**, 7202-7206 (1985).
 - 40) Hayes JD, Strange RC: Glutathione S-transferase polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology*, **61**, 154-166 (2000).
 - 41) Zimniak P, Nanduri B, Pikula S, Bendorowicz-Pikula J, Singhal SS, Srivastava SK, Awasthi S, Awasthi YC: Naturally occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymic properties. *Eur J Biochem*, **224**, 893-899 (1994).
 - 42) van Zuylen L, Verweij J, Nooter K, Brouwer E, Stoter G, Sparreboom A: Role of intestinal P-

- glycoprotein in the plasma and fecal disposition of docetaxel in humans. *Clin Cancer Res*, **6**, 2598-2603 (2000).
- 43) Komoto C, Nakamura T, Sakaeda T, Kroetz DL, Yamada T, Omatsu H, Koyama T, Okamura N, Miki I, Tamura T, Aoyama N, Kasuga M, Okumura K: MDR1 haplotype frequencies in Japanese and Caucasian, and in Japanese patients with colorectal cancer and esophageal cancer. *Drug Metab Pharmacokinet*, **21**, 126-132 (2006).
 - 44) Ieiri I, Takane H, Otsubo K: The MDR1 (ABCB1) gene polymorphism and its clinical implications. *Clin Pharmacokinet*, **43**, 553-576 (2004).
 - 45) Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, Takahashi M, Kurata Y, Kigawa J, Higuchi S, Terakawa N, Otsubo K: Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther*, **297**, 1137-1143 (2001).
 - 46) Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U: Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**, 3473-3478 (2000).
 - 47) Choi JR, Kim JO, Kang DR, Shin JY, Zhang XH, Oh JE, Park JY, Kim KA, Kang JH: Genetic Variations of Drug Transporters Can Influence on Drug Response in Patients Treated with Docetaxel Chemotherapy. *Cancer Res Treat*, **47**, 509-517 (2015).
 - 48) Hardwick LJ, Velamakanni S, van Veen HW: The emerging pharmacotherapeutic significance of the breast cancer resistance protein (ABCG2). *Br J Pharmacol*, **151**, 163-174 (2007).
 - 49) Kim KA, Joo HJ, Park JY: ABCG2 polymorphisms, 34G>A and 421C>A in a Korean population: analysis and a comprehensive comparison with other populations. *J Clin Pharm Ther*, **35**, 705-712 (2010).
 - 50) Wan Z, Wang G, Li T, Xu B, Pei Q, Peng Y, Sun H, Cheng L, Zeng Y, Yang G, Zhu YS: Marked Alteration of Rosuvastatin Pharmacokinetics in Healthy Chinese with ABCG2 34G>A and 421C>A Homozygote or Compound Heterozygote. *J Pharmacol Exp Ther*, **354**, 310-315 (2015).
 - 51) Ieiri I: Functional significance of genetic polymorphisms in P-glycoprotein (MDR1, ABCB1) and breast cancer resistance protein (BCRP, ABCG2). *Drug Metab Pharmacokinet*, **27**, 85-105 (2012).
 - 52) Fajac A, Gligorov J, Rezai K, Levy P, Levy E, Selle F, Beerblock K, Avenin D, Saintigny P, Hugonin S, Bernaudin JF, Lokiec F: Effect of ABCB1 C3435T polymorphism on docetaxel pharmacokinetics according to menopausal status in breast cancer patients. *Br J Cancer*, **103**, 560-566 (2010).
 - 53) Chang H, Rha SY, Jeung HC, Im CK, Noh SH, Kim JJ, Chung HC: Association of the ABCB1 3435C>T polymorphism and treatment outcomes in advanced gastric cancer patients treated with paclitaxel-based chemotherapy. *Oncol Rep*, **23**, 271-278 (2010).
 - 54) Tran A, Jullien V, Alexandre J, Rey E, Rabillon F, Girre V, Dieras V, Pons G, Goldwasser F, Treluyer JM: Pharmacokinetics and toxicity of docetaxel: role of CYP3A, MDR1, and GST polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther*, **79**, 570-580 (2006).
 - 55) Kim KP, Ahn JH, Kim SB, Jung KH, Yoon DH, Lee JS, Ahn SH: Prospective evaluation of the drug-metabolizing enzyme polymorphisms and toxicity profile of docetaxel in Korean patients with operable lymph node-positive breast cancer receiving adjuvant chemotherapy. *Cancer*

- Chemother Pharmacol*, **69**, 1221-1227 (2012).
- 56) Kim HJ, Im SA, Keam B, Ham HS, Lee KH, Kim TY, Kim YJ, Oh DY, Kim JH, Han W, Jang IJ, Kim TY, Park IA, Noh DY: ABCB1 polymorphism as prognostic factor in breast cancer patients treated with docetaxel and doxorubicin neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Sci*, **106**, 86-93 (2015).
 - 57) Facchini L, Martino R, Ferrari A, Pinana JL, Valcarcel D, Barba P, Granell M, Delgado J, Briones J, Sureda A, Brunet S, Sierra J: Degree of mucositis and duration of neutropenia are the major risk factors for early post-transplant febrile neutropenia and severe bacterial infections after reduced-intensity conditioning. *Eur J Haematol*, **88**, 46-51 (2012).
 - 58) Huisman MT, Chhatta AA, van Tellingen O, Beijnen JH, Schinkel AH: MRP2 (ABCC2) transports taxanes and confers paclitaxel resistance and both processes are stimulated by probenecid. *Int J Cancer*, **116**, 824-829 (2005).
 - 59) Lyman GH, Delgado DJ: Risk and timing of hospitalization for febrile neutropenia in patients receiving CHOP, CHOP-R, or CNOP chemotherapy for intermediate-grade non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*, **98**, 2402-2409 (2003).
 - 60) Dranitsaris G, Rayson D, Vincent M, Chang J, Gelmon K, Sandor D, Reardon G: Identifying patients at high risk for neutropenic complications during chemotherapy for metastatic breast cancer with doxorubicin or pegylated liposomal doxorubicin: the development of a prediction model. *Am J Clin Oncol*, **31**, 369-374 (2008).
 - 61) Pettengell R, Bosly A, Szucs TD, Jackisch C, Leonard R, Paridaens R, Constenla M, Schwenkglenks M, Impact of Neutropenia in Chemotherapy-European Study G: Multivariate analysis of febrile neutropenia occurrence in patients with non-Hodgkin lymphoma: data from the INC-EU Prospective Observational European Neutropenia Study. *Br J Haematol*, **144**, 677-685 (2009).
 - 62) Ishikawa T, Yasuda T, Okayama T, Dohi O, Yoshida N, Kamada K, Uchiyama K, Takagi T, Konishi H, Shiozaki A, Fujiwara H, Konishi H, Naito Y, Teramukai S, Itoh Y: Early administration of pegfilgrastim for esophageal cancer treated with docetaxel, cisplatin, and fluorouracil: A phase II study. *Cancer Sci*, **110**, 3754-3760 (2019).
 - 63) 高橋 克之 冢諒, 高橋 正也, 永山 勝也: ドセタキセル+シスプラチン+5-フルオロウラシル療法施行食道がん患者に対するペグフィルグラスチムによる発熱性好中球減少症の一次予防効果の検討. *医療薬学*, **43**, 336-343 (2017).
 - 64) Younis T, Rayson D, Jovanovic S, Skedgel C: Cost-effectiveness of febrile neutropenia prevention with primary versus secondary G-CSF prophylaxis for adjuvant chemotherapy in breast cancer: a systematic review. *Breast Cancer Res Treat*, **159**, 425-432 (2016).
 - 65) Wang CY, Heldermon CD, Vouri SM, Park H, Wheeler SE, Ramnarain BH, Dang NH, Brown JD: Trends in Use of Granulocyte Colony-Stimulating Factor Following Introduction of Biosimilars Among Adults With Cancer and Commercial or Medicare Insurance From 2014 to 2019. *JAMA Netw Open*, **4**, e2133474 (2021).
 - 66) "DNA Sequencing Costs: Data <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>. accessed 26 Mar 2022."
 - 67) Saarto T, Blomqvist C, Rissanen P, Auvinen A, Elomaa I: Haematological toxicity: a marker of adjuvant chemotherapy efficacy in stage II and III breast cancer. *Br J Cancer*, **75**, 301-305 (1997).
 - 68) Cameron DA, Massie C, Kerr G, Leonard RC: Moderate neutropenia with adjuvant CMF

- confers improved survival in early breast cancer. *Br J Cancer*, **89**, 1837-1842 (2003).
- 69) Di Maio M, Gridelli C, Gallo C, Shepherd F, Piantedosi FV, Cigolari S, Manzione L, Illiano A, Barbera S, Robbiati SF, Frontini L, Piazza E, Ianniello GP, Veltri E, Castiglione F, Rosetti F, Gebbia V, Seymour L, Chiodini P, Perrone F: Chemotherapy-induced neutropenia and treatment efficacy in advanced non-small-cell lung cancer: a pooled analysis of three randomised trials. *Lancet Oncol*, **6**, 669-677 (2005).
 - 70) Schuell B, Gruenberger T, Kornek GV, Dworan N, Depisch D, Lang F, Schneeweiss B, Scheithauer W: Side effects during chemotherapy predict tumour response in advanced colorectal cancer. *Br J Cancer*, **93**, 744-748 (2005).
 - 71) Yamanaka T, Matsumoto S, Teramukai S, Ishiwata R, Nagai Y, Fukushima M: Predictive value of chemotherapy-induced neutropenia for the efficacy of oral fluoropyrimidine S-1 in advanced gastric carcinoma. *Br J Cancer*, **97**, 37-42 (2007).
 - 72) Otake A, Tsuji D, Taku K, Kawasaki Y, Yokoi M, Nakamori H, Osada M, Matsumoto M, Inoue K, Hirai K, Itoh K: Chemotherapy-induced neutropenia as a prognostic factor in patients with metastatic pancreatic cancer treated with gemcitabine. *Eur J Clin Pharmacol*, **73**, 1033-1039 (2017).
 - 73) Yamamoto K, Sasano T, Tsuji D, Ishizuka Y, Tokou U, Nakamichi H, Yoneda T, Shiokawa M, Yabe K: Effects of Chemotherapy-Induced Neutropenia on Overall Survival in Patients With Unresectable or Metastatic Urothelial Carcinoma to Gemcitabine Plus Cisplatin Combination Chemotherapy. *Ann Pharmacother*, **53**, 690-696 (2019).
 - 74) Konishi H, Fujiwara H, Shiozaki A, Hiramoto H, Kosuga T, Komatsu S, Ichikawa D, Okamoto K, Otsuji E: Effects of neutropenia and histological responses in esophageal squamous cell carcinoma with neo-adjuvant chemotherapy. *Int J Clin Oncol*, **21**, 95-101 (2016).
 - 75) Mayers C, Panzarella T, Tannock IF: Analysis of the prognostic effects of inclusion in a clinical trial and of myelosuppression on survival after adjuvant chemotherapy for breast carcinoma. *Cancer*, **91**, 2246-2257 (2001).
 - 76) Rabik CA, Dolan ME: Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*, **33**, 9-23 (2007).
 - 77) Altaha R, Liang X, Yu JJ, Reed E: Excision repair cross complementing-group 1: gene expression and platinum resistance. *Int J Mol Med*, **14**, 959-970 (2004).
 - 78) Caldecott KW, Aoufouchi S, Johnson P, Shall S: XRCC1 polypeptide interacts with DNA polymerase beta and possibly poly (ADP-ribose) polymerase, and DNA ligase III is a novel molecular 'nick-sensor' in vitro. *Nucleic Acids Res*, **24**, 4387-4394 (1996).
 - 79) Hu J, Wang N, Wang YJ: XRCC3 and RAD51 expression are associated with clinical factors in breast cancer. *PLoS One*, **8**, e72104 (2013).
 - 80) Pelttari LM, Kiiski JI, Ranta S, Vilske S, Blomqvist C, Aittomaki K, Nevanlinna H: RAD51, XRCC3, and XRCC2 mutation screening in Finnish breast cancer families. *Springerplus*, **4**, 92 (2015).
 - 81) Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, Zhou W, Su L, Wain JC, Lynch TJ, Neuberg DS, Christiani DC: XPD and XRCC1 genetic polymorphisms are prognostic factors in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum chemotherapy. *J Clin Oncol*, **22**, 2594-2601 (2004).
 - 82) Isla D, Sarries C, Rosell R, Alonso G, Domine M, Taron M, Lopez-Vivanco G, Camps C, Botia M, Nunez L, Sanchez-Ronco M, Sanchez JJ, Lopez-Brea M, Barneto I, Paredes A, Medina B,

- Artal A, Lianes P: Single nucleotide polymorphisms and outcome in docetaxel-cisplatin-treated advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*, **15**, 1194-1203 (2004).
- 83) Zhou W, Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, Neuberger DS, Wain JC, Lynch TJ, Su L, Christiani DC: Excision repair cross-complementation group 1 polymorphism predicts overall survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res*, **10**, 4939-4943 (2004).
- 84) de las Penas R, Sanchez-Ronco M, Alberola V, Taron M, Camps C, Garcia-Carbonero R, Massuti B, Queralt C, Botia M, Garcia-Gomez R, Isla D, Cobo M, Santarpia M, Cecere F, Mendez P, Sanchez JJ, Rosell R, Spanish Lung Cancer G: Polymorphisms in DNA repair genes modulate survival in cisplatin/gemcitabine-treated non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol*, **17**, 668-675 (2006).
- 85) Wang L, Sun C, Li X, Mao C, Qian J, Wang J, Wu J, Li Q, Bai C, Han B, Gao Z, Xu J, Yin J, Liu Z, Lu D, Jin L, Wang H: A pharmacogenetics study of platinum-based chemotherapy in lung cancer: ABCG2 polymorphism and its genetic interaction with SLC31A1 are associated with response and survival. *J Cancer*, **12**, 1270-1283 (2021).
- 86) 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, Verweij J: New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*, **45**, 228-247 (2009).
- 87) Zhao Z, Zhang Y, Wang X, Geng X, Zhu L, Li M: Clinical response to chemoradiotherapy in esophageal carcinoma is associated with survival and benefit of consolidation chemotherapy. *Cancer Med*, **9**, 5881-5888 (2020).
- 88) Cheng J, Liu W, Zeng X, Zhang B, Guo Y, Qiu M, Jiang C, Wang H, Wu Z, Meng M, Zhuang H, Zhao L, Hao J, Cai Q, Xie D, Pang Q, Wang P, Yuan Z, Qian D: XRCC3 is a promising target to improve the radiotherapy effect of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci*, **106**, 1678-1686 (2015).
- 89) Assis J, Pereira D, Medeiros R: Ovarian cancer and DNA repair: DNA ligase IV as a potential key. *World J Clin Oncol*, **4**, 14-24 (2013).
- 90) Xu ZY, Loignon M, Han FY, Panasci L, Aloyz R: Xrcc3 induces cisplatin resistance by stimulation of Rad51-related recombinational repair, S-phase checkpoint activation, and reduced apoptosis. *J Pharmacol Exp Ther*, **314**, 495-505 (2005).
- 91) Maacke H, Jost K, Opitz S, Miska S, Yuan Y, Hasselbach L, Luttges J, Kalthoff H, Sturzbecher HW: DNA repair and recombination factor Rad51 is over-expressed in human pancreatic adenocarcinoma. *Oncogene*, **19**, 2791-2795 (2000).
- 92) Fachal L, Gomez-Caamano A, Peleteiro P, Carballo A, Calvo-Crespo P, Sanchez-Garcia M, Lobato-Busto R, Carracedo A, Vega A: Association of a XRCC3 polymorphism and rectum mean dose with the risk of acute radio-induced gastrointestinal toxicity in prostate cancer patients. *Radiother Oncol*, **105**, 321-328 (2012).
- 93) Pasqualetti F, Gonnelli A, Orlandi P, Palladino E, Giannini N, Gadducci G, Mattioni R, Montrone S, Calistri E, Mazzanti CM, Franceschi S, Ortenzi V, Scatena C, Zavaglia K, Fanelli GN, Morganti R, Santonocito O, Bocci G, Naccarato GA, Paiar F: Association of XRCC3 rs1799794 polymorphism with survival of glioblastoma multiforme patients treated with combined radio-chemotherapy. *Invest New Drugs*, **39**, 1159-1165 (2021).
- 94) Salnikova LE, Kolobkov DS: Germline and somatic genetic predictors of pathological response

in neoadjuvant settings of rectal and esophageal cancers: systematic review and meta-analysis.
Pharmacogenomics J, **16**, 249-265 (2016).