

令和 2 年 6 月 25 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11246

研究課題名(和文) 再発頭頸部扁平上皮癌のIGF-1R, EpCAMを中心とした網羅的ゲノム解析

研究課題名(英文) Comprehensive genomic analysis focusing on IGF-1R and EpCAM in recurrent head and neck squamous cell carcinoma

研究代表者

松本 文彦 (MATSUMOTO, FUMIHIKO)

順天堂大学・医学部・先任准教授

研究者番号：70445584

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌手術症例に対しP53遺伝子の機能解析を免疫染色とシーケンス解析を用いて検討した。その結果、変異の種類および免疫染色の染色程度によりp53の機能をfavorable functionとadverse functionで分類した。免疫染色で強陽性もしくはlostの症例をadverse function群、wild typeもしくは弱陽性の症例をfavorable function群と定義し2群間で生存率を検討したところ、有意にadverse function群で予後不良であった。P53の変異後の機能が頭頸部癌の予後に重要な因子になる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌における予後因子に関してはp53は代表的な予後因子であるが、その機能ごとの詳細な検討はされていない。今回の結果からはEPCAMも含め頭頸部癌の予後の予測につながる。頭頸部癌治療の大きなパラダイムシフトとまでは残念ながら至らないが治療方針の決定の一助となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Clinically well-annotated FFPE specimens from 317 patients with HNSCC treated by surgery were examined by all-exon TP53 sequencing using a next-generation sequencer and p53 protein phenotype by immunohistochemistry. Two risk categories were classified as “p53 adverse function” and “p53 favorable function” based on TP53 mutation status and p53 protein phenotype. Local control rates were compared between the risk groups using Fisher’s exact test. Multivariate analysis identified “p53 adverse function” as an independent poor predictor of overall survival, local control, and distant metastasis-free survival. All-exon TP53 sequencing and p53 protein phenotype analysis using FFPE specimens can accurately predict clinical outcomes.

研究分野：頭頸部外科学

キーワード：頭頸部癌 再発腫瘍 EPCAM IGF-1R 次世代シーケンサー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は近年、生存率の向上はあまりなく大きな変化がないのが現状である。年間おおよそ2万人が罹患しているが、そのうち5年間生存できるのは40~50%に過ぎない。頭頸部癌の予後を予測する因子としては、画像検査による原発巣の大きさ、頸部リンパ節転移、遠隔転移に規定されるTNM分類のステージ分類が用いられる。しかし、同じT stageでも、頸部リンパ節転移をきたしやすいものや、急激な臨床経過をたどる症例、進行癌でも化学放射線治療単独で完治する症例など、予後がすべてTNM分類に従っていないことはベッドサイドにおいてたびたび遭遇することである。頭頸部領域は、他の消化管と異なり、解剖学的に発声、嚥下、呼吸に大きくかかわる部位であるため、治療においては癌の根治を目指すだけでなく、機能面の他にも整容面などのQOLへの配慮がとくに重要である。現在のTNM分類における指標である腫瘍の大きさや転移の個数だけでなく、分子生物学的バイオマーカーの検索や、遺伝子検索による疾患の分類でのオーダーメイドの治療方針が、今後、治療成績だけでなく、患者のQOLの向上のためにも非常に重要な因子である。頭頸部癌において初回治療前と再発時では、分子生物学的、形態学的に腫瘍の性質が異なるケースをたびたび認める。特に、再発腫瘍においては扁平上皮癌から腺癌形質への変化をきたすケースが時として認められる(図1)。

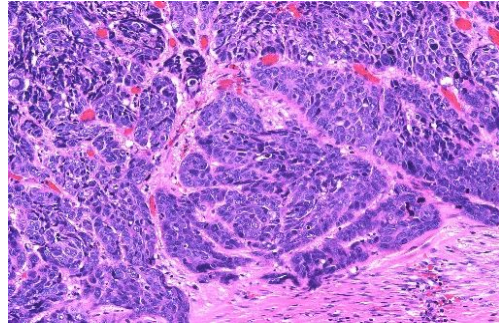


図1：頭頸部扁平上皮癌の再発腫瘍における腺型分科

それらは治療抵抗性の細胞が残存することによって起こっている可能性と治療による腫瘍細胞の変化がもたらされている可能性とが考えられる。しかし、いずれの可能性においても、その差異を調べることによりある特定の分子と治療の関連性を導き出せる可能性がある。本研究では、そこに注目して研究を進めた。

## 2. 研究の目的

IGF-1とEpCAMの発現を中心に頭頸部扁平上皮癌の予後、治療効果を検討した。まずはこれら2遺伝子に対しては免疫染色を用いて再発腫瘍検体に対して発現状況を検討する。そして、それらの症例の初診時の検体を使用して同様に免疫染色を行い、同一患者の同一腫瘍が再発を経てどのように変化するかを比較した。そして、この変化がその後の予後や再発までの期間、再発部位といった臨床データとの関連性を検討した。しかし、これら2遺伝子に対して相互に作用している因子があり、それらにより複雑に腫瘍の特性が左右されていると思われる。そこで我々はP53に注目した。その要素に関しては次世代シーケンサーを用いて変異のパターンを解析し、また平行し免疫染色を行い、前記2遺伝子との関わり合いを解析した。症例数を蓄積し、再発症例に特徴的なIGF-1R、EpCAMの発現状況を解析し、臨床経過、具体的には再発の有無、初回治療の治療方法、生存期間などの臨床データとの照合を行い、臨床的意義を検討した。新たな治療のevidenceの構築は困難と考えているが、最終的には治療前に生検検体などから遺伝子発現をチェックし前向きな臨床試験によって今後の治療の大きな参考とすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

1: 本研究ではIGF-1R、EpCAMの2遺伝子を中心に、さらにP53遺伝子を網羅的に頭頸部扁平上皮癌の再発腫瘍に対する知見を取得する。再発腫瘍検体に対して免疫染色を用いてIGF-1R、EpCAMの発現を検討し、同症例の初診時検体についても同様の検討を行い比較検討した。次世代シーケンサーを用いて、網羅的に再発腫瘍のゲノム解析を行い、同様に初診時検体での検討と比較を行った。それらの結果を再発様式、再発までの期間、予後などの臨床データと照合し臨床的意義を探索した。

2: EpCAM、IGF-1Rについて免疫染色を用いて初診時と再発時の発現状況を比較検討し、再発腫瘍に関してはEpCAMとIGF-1Rについても免疫染色を用いてタンパクの発現状況を調査する。

3: データ解析および臨床データの経過との関連性の探究

前年度から継続的に得られたデータを基に、臨床データを経過と照合しデータ分析を行った。

## 4. 研究成果

頭頸部扁平上皮癌症例(口腔癌、中下咽頭癌、喉頭癌)症例の生検検体および切除検体に対して次世代シーケンサーを用いて腫瘍の遺伝子発現状態を網羅的にチェックした。また上記頭頸部癌症例に対してp53も対象遺伝子として次世代シーケンサーによる

解析を行った。p53 の変異から機能を定義し、それと予後との関係性を解析した。カルテより頭頸部扁平上皮癌症例で初回治療を当院で行った症例のうち再発をきたし、その病変に対して salvage 手術を行った症例を抽出した。抽出した症例の初診時に病変より採取した生検材料および初回治療として手術を行った症例では切除検体を利用した。EpCAM, IGF-1R について免疫染色の結果では、EpCAM および IGF-1R は再発腫瘍でより強く発現している傾向があり、特に EpCAM に関しては、強陽性の症例では再発後の経過が急速な症例が多く、腫瘍の悪性化との関連が示唆された。頭頸部癌手術症例に対し P53 遺伝子の機能解析を免疫染色とシーケンス解析を用いて検討した。その結果、変異の種類および免疫染色の染色程度により p53 の機能を favorable function と adverse function で分類した。免疫染色で強陽性もしくは lost の症例を adverse function 群、wild type もしくは弱陽性の症例を favorable function 群と定義し 2 群間で生存率を検討したところ、有意に adverse function 群で予後不良であった。P53 の変異後の機能が頭頸部癌の予後に重要な因子になる可能性が示唆された。

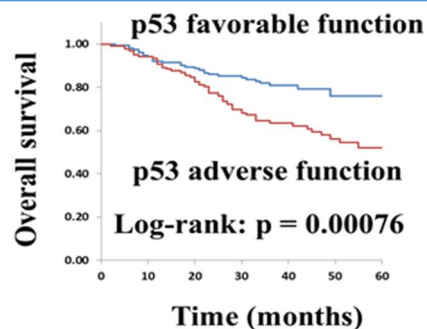


図2 p53 functional classification

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Matsumoto Fumihiko, Mori Taisuke, Matsumura Satoko, Matsumoto Yoshifumi, Fukasawa Masahiko, Teshima Masanori, Kobayashi Kenya, Yoshimoto Seiichi	4. 巻 47
2. 論文標題 Prognostic significance of surgical extranodal extension in head and neck squamous cell carcinoma patients	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 699 ~ 704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyx055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Kenya, Mori Taisuke, Matsumoto Fumihiko, Murakami Naoya, Teshima Masanori, Fukasawa Masahiko, Matsumoto Yoshifumi, Matsumura Satoko, Itami Jun, Asai Masahiro, Yoshimoto Seiichi	4. 巻 47
2. 論文標題 Impact of microscopic orbital periosteum invasion in orbital preservation surgery	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 321 ~ 327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyw207	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumura Satoko, Matsumoto Fumihiko, Mori Ayaka, Omura Go, Matsumoto Yoshifumi, Fukasawa Masahiko, Kobayashi Kenya, Yoshimoto Seiichi	4. 巻 28
2. 論文標題 Prophylactic ligation of proximal of common carotid artery under local anesthesia for carotid artery rupture	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JOURNAL OF JAPAN SOCIETY FOR HEAD AND NECK SURGERY	6. 最初と最後の頁 171 ~ 176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5106/jjshns.28.171	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 松本文彦	4. 巻 34巻5号
2. 論文標題 【手術に必要な画像診断-口腔・咽頭編】 口腔腫瘍切除術 口腔底腫瘍切除術	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JOHNS	6. 最初と最後の頁 578-582
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Fumihiko, Miyakita Yasuji, Mori Taisuke, Shimo Tatsunori, Murakami Naoya, Yoshida Akihiko, Arakawa Ayumu, Omura Go, Fukasawa Masahiko, Matsumoto Yoshifumi, Matsumura Satoko, Itami Jun, Narita Yoshitaka, Yoshimoto Seiichi, Kobayashi Kenya	4. 巻 79
2. 論文標題 Impact of Surgical Margin in Skull Base Surgery for Head and Neck Sarcomas	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neurological Surgery Part B: Skull Base	6. 最初と最後の頁 437 ~ 444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/s-0037-1615816	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nomura Tsutomu, Maki Daisuke, Kishishita Sadahiro, Matsumoto Fumihiko, Yoshimoto Seiichi	4. 巻 2018
2. 論文標題 Oncological and Functional Evaluation of Open Conservation Surgery for Hypopharyngeal Cancer with/without Reconstruction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Otolaryngology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2018/2132781	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nomura T, Maki D, Matsumoto F, Mori T, Yoshimoto S.	4. 巻 97(10-11)
2. 論文標題 A rare case of coexisting lacrimal sac adenocarcinoma and transitional cell carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ear Nose Throat J	6. 最初と最後の頁 32-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mori Ayaka, Matsumoto Fumihiko, Mori Taisuke, Omura Go, Matsumura Satoko, Matsumoto Yoshifumi, Fukasawa Masahiko, Kobayashi Kenya, Yoshimoto Seiichi	4. 巻 29
2. 論文標題 An evaluation of the significance of surgical margin in p16 positive oropharyngeal carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JOURNAL OF JAPAN SOCIETY FOR HEAD AND NECK SURGERY	6. 最初と最後の頁 31 ~ 34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5106/jjshns.29.31	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Kenya, Yoshimoto Seiichi, Matsumoto Fumihiko, Ando Mizuo, Murakami Naoya, Omura Go, Fukasawa Masahiko, Matsumoto Yoshifumi, Matsumura Satoko, Akamatsu Maki, Hiraoka Nobuyoshi, Eigitsu Ryo, Mori Taisuke	4. 巻 26
2. 論文標題 All-Exon TP53 Sequencing and Protein Phenotype Analysis Accurately Predict Clinical Outcome after Surgical Treatment of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 2294 ~ 2303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07287-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Teshima M, Tokita K, Ryo E, Matsumoto F, Kondo M, Ikegami Y, Shinomiya H, Otsuki N, Hiraoka N, Nibu KI, Yoshimoto S, Mori T.	4. 巻 245
2. 論文標題 Clinical Impact of a Cytological Screening System Using Cyclin D1 Immunostaining and Genomic Analysis for the Diagnosis of Thyroid Nodules	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 18 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-019-5452-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fumihiko Matsumoto, Kenya Kobayashi, Go Omura, Satoko Matsumura, Yoshifumi Matsumoto, Masahiko Fukasawa, Seiichi Yoshimoto	4. 巻 50
2. 論文標題 Pull-through resection without free-flap reconstruction for lateral wall oropharyngeal cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa079.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 松本文彦
2. 発表標題 中咽頭側壁癌に対する非再建pull-through法の成績
3. 学会等名 第42回頭頸部癌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 彩加, 松本 文彦, 森 泰昌, 小村 豪, 松村 聡子, 松本 吉史, 深澤 雅彦, 小林 謙也, 吉本 世一
2. 発表標題 頭頸部扁平上皮癌における断端評価と予後の解析
3. 学会等名 第42回頭頸部癌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松本文彦
2. 発表標題 若年者舌癌の治療成績の検討
3. 学会等名 第29回日本頭頸部外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本文彦
2. 発表標題 第43回日本頭頸部癌学会
3. 学会等名 High-volume center における定型的な切除と再建 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本文彦
2. 発表標題 気管癌に対して広範囲切除を行い、肋軟骨および遊離皮弁による再建を行った 1 例
3. 学会等名 第30回日本頭頸部外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Xue Meng, Katsuhisa Ikeda, Fumihiko Matsumoto, Weixian Liu
2. 発表標題 The effects of HBXIP on the Biological Functions of TSCCa Cell Line
3. 学会等名 15th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森 泰昌 (MORI TAISUKE)  (00296708)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医員  (82606)	