

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16894

研究課題名(和文) 癌特異的蛍光プローブによる頭頸部癌検出法の開発

研究課題名(英文) The development of method in detecting head and neck cancers using cancer-specific fluorescent probes

研究代表者

福岡 修 (Fukuoka, Osamu)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80779794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)： グルタミルトランスベプチダーゼ(GGT)をターゲットとする蛍光プローブを頭頸部癌病変に吹きかけることにより、約半数において蛍光活性の上昇が確認された。一方で頭頸部癌切除検体を用いた遺伝子解析にて約半数においてGGT1が高発現し、発がんに関わっている事が知られているPI3Kシグナル伝達経路も亢進している事が確認できた。また、頭頸部癌由来細胞を用いた検証実験でも蛍光活性とGGT1の発現測定結果が一致することが確認され、GGT1発現が発がんに関わるPI3Kシグナル伝達経路の下流で制御を受けることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GGT1発現が発がんに関わるPI3Kシグナル伝達経路の下流で制御を受けることが示唆され、その阻害剤は将来的な新規治療薬としての可能性が期待される。GGT活性を確認するには本来免疫染色や遺伝子解析が必要だが、それを蛍光プローブという比較的簡便な手法で蛍光活性を評価する事で代用できればその意義は大きい。

研究成果の概要(英文)： The number of cases reacting to fluorescent probes targeting -glutamyltranspeptidase (GGT) in head and neck cancers was approximately 50%. On the other hand, RNA sequencing also revealed high expression of GGT1 and activation of PI3K pathway in half of the cases. The correlation of reaction to fluorescent probes and GGT1 expression was verified through cell experiment from head and neck cancers.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：蛍光プローブ GGT活性 頭頸部癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

嚥下や発声など、人が日常生活を送っていく上で非常に重要となる機能を有する頭頸部領域の治療においては、単に生命予後の改善だけでなく、嚥下・発声機能を温存することが求められる。そのためには正確な病変の範囲を評価する事が必要であるが、未だ確実な方法が存在しない。癌細胞特異的に発光する蛍光プローブは粘膜面に噴霧することによって蛍光を発するため、術野を明視下におきやすい頭頸部癌では良い適応になる。同時に、蛍光プローブがターゲットとする癌特異的な酵素活性の多くは細胞増殖、浸潤や転移に関係することが予想される。すなわち蛍光の定量を通じてこれらの酵素活性を知ることは、個々の症例における癌細胞の生物学的特性を知ることであり、予後予測を含む癌の質的診断にも繋がるのが期待できる。

2. 研究の目的

肝臓癌、乳癌、脳腫瘍など多くの悪性腫瘍で活性が亢進している酵素である Gamma-glutamyltranspeptidase (GGT) をターゲットとした蛍光プローブ (gGlu-HMRG) を用い、頭頸部癌切除検体での実用性検討する。また、蛍光イメージングの定量結果と癌の臨床・生物学的特性との関連について検討する。

3. 研究の方法

(1) 蛍光プローブによる頭頸部癌切除検体のイメージング

蛍光プローブを頭頸部癌切除検体の肉眼的病変部位を含む粘膜面に噴霧し蛍光活性の有無について評価する。

(2) RNA シーケンスによる遺伝子発現解析

頭頸部癌凍結検体での RNA シーケンスにて遺伝子発現および経路解析を行う。

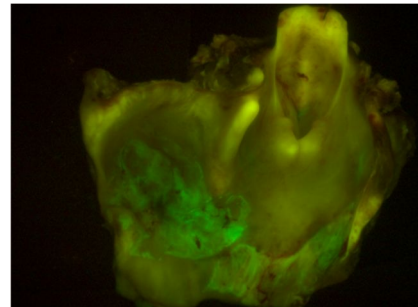
(3) 頭頸部癌細胞株における GGT1 発現および蛍光強度の定量

頭頸部癌由来培養細胞 6 種類 (Detroit562, CAL27, SCC071, SCC25, BICR6, FaDu) に口腔正常粘膜細胞 (HOK) を加えた 7 種で検証。まず、各細胞株について qPCR により GGT1 の発現を測定し、それぞれの蛍光イメージングも行う。GGT1 発現と蛍光イメージングを比較することにより GGT1 発現と蛍光活性の相関性を評価する。

4. 研究成果

(1) 蛍光プローブによる頭頸部癌切除検体のイメージング

評価を行った 15 例 (中咽頭 5 例、下咽頭 9 例、喉頭 1 例) 中 7 例 (中咽頭 2 例、下咽頭 4 例、喉頭 1 例) において蛍光上昇を認めた。蛍光活性を示すものと示さないもの間に明らかな傾向や特徴は見いだせなかった。



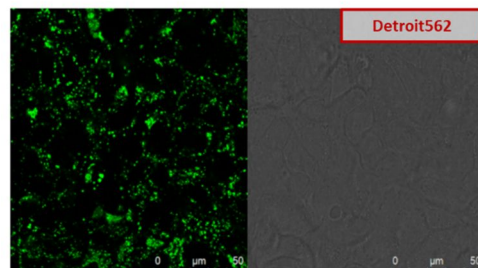
下咽頭癌切除検体における蛍光上昇例

(2) RNA シーケンスによる遺伝子発現解析

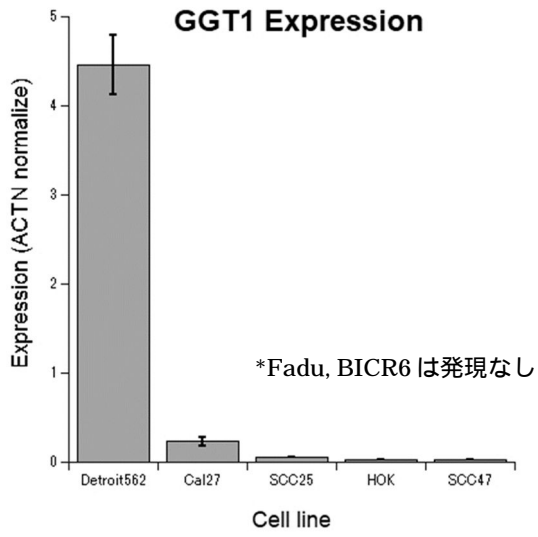
RNA シーケンスによる発現解析において、9 例中 4 例において GGT1 の高発現を認め、それらの群では糖脂質代謝に関与する FGF21 やグルココルチコイド受容体に関与する NR3C1 で発現に大きな差が見られた。経路解析では PI3K 経路の亢進が確認された。一方で、PI3K の要である AKT1 は減少し、AKT2/3 では有意な変化がみられなかった。Gene Ontology 解析では TP53 経路は活性化されているものの、糖代謝はむしろ抑制されていた。

(3) 頭頸部癌細胞株における GGT1 発現および蛍光強度の定量

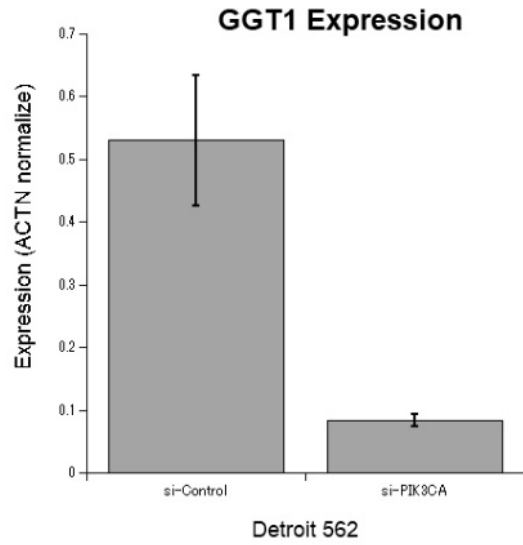
Detroit562 においてのみ GGT1 の高発現が見られ、その他の細胞株では発現はわずかあるいは全く見られなかった。蛍光イメージングにおいても強い蛍光活性がみられたのは Detroit562 のみであり、GGT1 の発現と概ね一致した。Detroit562 において PI3K 経路に関わる PIK3CA をノックダウンしたところ、GGT1 発現が抑制されている事が確認された。これはすなわち GGT1 が PI3K の下流で制御を受けることが示唆された。



Detroit562 における GGT1 蛍光イメージング



各細胞株における GGT1 発現解析



Detroit 562
Detroit562 における PI3K ノックダウン解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 明石 健, 福岡 修, 齊藤 祐毅, 安藤 瑞生, 吉田 昌史, 山岨 達也	4. 巻 28
2. 論文標題 当科における嗅神経芽細胞腫症例の臨床的検討	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 頭頸部外科	6. 最初と最後の頁 45-50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.5106/jjshns.28.45	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 岡本 拓也, 齊藤 祐毅, 明石 健, 福岡 修, 吉田 昌史, 山岨 達也	4. 巻 121
2. 論文標題 ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染を合併した頭頸部癌症例	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本耳鼻咽喉科学会会報	6. 最初と最後の頁 127-133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3950/jibiinkoka.121.127	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 Omura G, Ando M, Saito Y, Fukuoka O, Akashi K, Yoshida M, Kakigi A, Asakage T, Yamasoba T.	4. 巻 Jun;22(3)
2. 論文標題 Survival impact of local extension sites in surgically treated patients with temporal bone squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 431-437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-016-1076-8	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 Saito Y, Omura G, Yasuhara K, Rikitake R, Akashi K, Fukuoka O, Yoshida M, Ando M, Asakage T, Yamasoba T.	4. 巻 Aug;39(8)
2. 論文標題 Prognostic value of lymphovascular invasion of the primary tumor in hypopharyngeal carcinoma after total laryngopharyngectomy.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Head Neck	6. 最初と最後の頁 1535-1543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hed.24705	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 Omura G, Ando M, Ebihara Y, Saito Y, Kobayashi K, Fukuoka O, Akashi K, Yoshida M, Asakage T, Yamasoba T.	4. 巻 Dec 28;17(1)
2. 論文標題 The prognostic value of TP53 mutations in hypopharyngeal squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 898
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-017-3913-1	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 福岡修, 安藤瑞生	4. 巻 35
2. 論文標題 嚙胞癌の追加治療について, 補完全摘とアブレーションの適応	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JOHNS	6. 最初と最後の頁 713-715
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 無
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5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 福岡修
2. 発表標題 甲状腺微小癌の自然史とActive surveillanceのこれから
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福岡修
2. 発表標題 当科における甲状腺乳頭癌高危険度群に対する治療の妥当性
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fukuoka O
2. 発表標題 Clinical outcome of nivolumab on recurrent or metastatic squamous cell carcinoma
3. 学会等名 Asia-Oceania ORL-HNS Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福岡修
2. 発表標題 当科におけるニボルマブ症例の検討
3. 学会等名 日本頭頸部外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福岡修、明石健、齊藤祐毅、吉田昌史、安藤瑞生、山岨達也
2. 発表標題 当科において経験した乳腺相似分泌癌(MASC)症例
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2017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
研究協力者	安藤 瑞生 (ANDO MIZUO)	東京大学・耳鼻咽喉科・准教授 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	吉田 昌史 (YOSHIDA MASAFUMI)	東京大学・耳鼻咽喉科 (12601)	
研究協力者	齊藤 祐毅 (SAITO YUKI)	東京大学・耳鼻咽喉科・特任講師 (12601)	