

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17267

研究課題名(和文) 口腔癌に対するセツキシマブの治療効果を高めるための薬剤感受性制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of drug sensitivity control mechanism to enhance the therapeutic effect of cetuximab on oral cancer

研究代表者

鳴瀬 智史 (NARUSE, Tomofumi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・客員研究員

研究者番号：70549609

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では口腔扁平上皮癌におけるPIK3CA遺伝子がコードするPI3K110 タンパク発現とセツキシマブの治療効果について検討した。

結果としてPI3Kp110 の発現はセツキシマブ非感受性群で有意に高発現していた。累積生存率ではPI3Kp110 発現群で低下がみられた。口腔癌細胞株ではPI3Kp110 阻害薬でタンパク抑制することで、下流の因子の発現低下およびセツキシマブ感受性の向上が認められ、上皮間葉転換の抑制も確認できた。In vivoの検討でもPI3Kp110 を抑制することで腫瘍径の縮小が認められ、セツキシマブ感受性の向上がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

セツキシマブ療法は再発/転移口腔癌の標準治療として普及している。奏効率は高く、一定の生存期間の延長が期待でき、我々もその治療成績について欧文雑誌で公表している。しかしながら、長期投与に伴う薬剤耐性も問題となっており、セツキシマブ以降の治療選択肢については科学的根拠の高いものがほとんどない。本研究ではそのセツキシマブ薬剤耐性を克服するための研究を行い、一定の成果を出すことができた。これが実臨床に応用されれば、再発/転移口腔癌の生存期間のさらなる延長が期待でき、社会的意義は十分にあると考える。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed to examine the association of PI3Kp110 pathway expression with cetuximab resistance and the anti-tumor effects of alpelisib (PI3K inhibitor) and cetuximab in oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells.

PI3Kp110 expression was significantly associated with the tumor response to cetuximab ( $p < 0.05$ ) and one-year PFS and OS. Combined treatment with alpelisib and cetuximab resulted in enhanced anti-tumor effects in vitro compared to either agent treated individually. In particular, expression of EMT-related proteins decreased, suggesting that the invasion potential of cetuximab-resistant cells decreased. Furthermore, treatment of mice bearing OSCC xenografts with alpelisib and cetuximab decreased PI3K pathway expression.

研究分野：口腔腫瘍治療学

キーワード：セツキシマブ アルペリシブ 口腔癌 耐性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

NCCN ガイドラインによると、再発/転移口腔癌に対しセツキシマブ療法は、カテゴリー2Bで推奨されている。その一方で、長期投与に伴う獲得耐性を持ち、新病変が出現する症例も存在し、これらの病変の制御が今後の課題となっている。セツキシマブはEGFRと結合することで、下流のシグナルを抑制し、抗腫瘍効果を発揮する分子標的薬であるが、獲得耐性に関与する候補遺伝子の1つにPIK3CA遺伝子が報告されている。この遺伝子は癌特異的あるいは抗癌剤特異的に体細胞変異をきたすといわれており、PI3Kの触媒サブユニットであるp110をコードし、下流のシグナルを異常活性化されることでセツキシマブの効果を減弱させる。口腔癌においてもこの遺伝子変異については報告があり、p110の異常活性には野生型の遺伝子増幅より変異型遺伝子によるものがほとんどである。PIK3CA変異型とセツキシマブの治療成績に関する報告を渉猟すると、KRAS野生型大腸癌で治療成績が有意に低下したとの報告がなされているが、その一方で口腔癌に関する報告はまだなされておらず、他の頭頸部癌と比較してもセツキシマブの感受性が異なることから、口腔癌に特化した検討が必要である。

### 2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌におけるPIK3CA遺伝子がコードするPI3Kp110タンパクの発現とセツキシマブの治療効果との関連を明らかにする。

### 3. 研究の方法

当科で2012年12月から2017年3月までにセツキシマブを投与した再発/転移口腔癌で、投与前に切除組織を採取でき、かつレシストガイドラインに準じて総合効果判定が得られた25例を対象とした。PI3Kp110の免疫組織化学染色を行い、臨床効果判定との相関性について検討した。またPIK3CA遺伝子野生型と変異型の口腔癌細胞株を選択し、PI3Kp110の抑制による癌細胞株の悪性度の変化について解析した。またPI3Kp110抑制剤であるアルペリシブおよびセツキシマブ併用による感受性変化について解析した。さらにIn vivoでも、科学的根拠の向上のため、同様の解析を行った。

### 4. 研究成果

免疫組織化学染色の結果として、PI3Kp110の発現は癌細胞の細胞質にみられ、腫瘍包巣および先端部いずれにもみられたが、特に先端部に強く出る傾向にあった。陽性率は56%で、治療成績との相関ではSD/PD群で有意に高い発現がみられた。

1年生存率で比較すると、タンパク陽性症例で生存率が低い傾向にあり、セツキシマブ感受性との関連が考えられた。細胞生物学的検討として、PI3Kp110aのタンパク発現とセツキシマブの感受性との相関を見たところ、相関する傾向はあったが、PIK3CA遺伝子野生型と変異型の口腔癌細胞株3株の間では明らかな相関はみられなかった。増殖指数および浸潤指数との検討では、浸潤指数との間に有意な相関があり、PI3Kp110の高発現に伴う浸潤能の高さが示唆された結果となった。

PI3Kp110阻害薬であるアルペリシブを使用。IC50を算出し、タンパク発現変化を解析したところPI3Kp110の発現低下、さらに下流の経路の発現低下がみられた。またE-cadherinとN-cadherinの発現をみたところ、E-cadherinの発現上昇およびN-cadherinの発現低下がみられ、アルペリシブ投与によるEMTの抑制が確認できた。遊走能を解析したところ、コントロール群と比較して薬剤を使用した3群では有意な遊走能の低下がみられ、さらにセツキシマブ単剤と比べ併用群で有意な遊走能の低下が見られた。また浸潤能でもセツキシマブ、アルペリシブ単剤と比較し併用群では浸潤能の有意な低下が見られた。

動物実験では、コントロール群、セツキシマブ投与群、アルペリシブ投与群、併用群の4群に分類。4週間の治療後、腫瘍を切除し各タンパクの発現を免疫組織学的染色で確認した。これらの3つのタンパクはコントロール群において高発現を認めたが、セツキシマブ投与群ではEGFRとPI3Kp110の発現は抑制され、アルペリシブ投与群ではEGFRの発現が強く認められたのに対しPI3Kp110、p-mTORの発現の抑制を認めた。また、併用群ではEGFR、PI3Kp110、p-mTORの発現の抑制を認めた。

以上の結果からの考察では、PIK3CA遺伝子変異型の頻度にはいくつか報告があり、我々が渉猟し得た範囲では口腔癌では0-21%とやや低値ではしたが、この遺伝子変異はAkt-mTOR経路の異常活性に強く関与しており、ステージ4の症例に多くみられたとありました。口腔癌では頻度は低いですが、分子標的薬などの薬剤で獲得変異を示すとの報告があり、本研究からもPI3K経路の異常活性はセツキシマブの感受性に大きく関与している可能性が考えられた。治療成績に関する

報告を渉猟すると、大腸癌において KRAS 野生型で PIK3CA 変異型をもつものは、有意に予後が悪いという報告が多くみられた。また頭頸部癌においても、PIK3CA 変異型がみられた 7 例で奏功した症例はなかったと報告している。

本研究では、PI3Kp110 の発現は治療効果との有意な相関があり、治療効果の予測因子となる可能性となりうることが示唆された。

セツキシマブとアルペリシブ併用の報告を渉猟すると、会議録ですが、フェーズ 1b 試験にて、プラチナ製剤抵抗性の再発/転移頭頸部癌のうち、アルペリシブ単剤療法で奏効率 11%、セツキシマブとの併用で奏効率 25%であり、またセツキシマブ耐性症例でも病勢コントロール率は 71%であったとの報告があります。本研究ではアルペリシブとの併用でセツキシマブ単剤より効果増強が示され、浸潤能も抑制されたことから、新たな治療戦略につながる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Hiroki Tsuchihashi, Tomofumi Naruse, Souichi Yanamoto, Kohei Okuyama, Kohei Furukawa, Keisuke Omori, Masahiro Umeda	4. 巻 -
2. 論文標題 The selective PI3K110 inhibition as a novel therapeutic option for cetuximab resistant oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology reports	6. 最初と最後の頁 -
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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 土橋宏輝・鳴瀬智史・柳本惣市・大森景介・古川浩平・梅田正博
2. 発表標題 再発/転移口腔癌に対するセツキシマブの治療効果を高めるための薬剤感受性機構の検討
3. 学会等名 第64回日本口腔外科学会総会・学術集会
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
---------------------------	-----------------------	----