

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：22701
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2018～2021
課題番号：18K09351
研究課題名（和文）頭頸部癌heterogeneityを引き起こす微小環境のオーム解析

研究課題名（英文）Heterogeneity

研究代表者

畠山 博充（Hatakeyama, Hiromitsu）

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・教授

研究者番号：10455652

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：高齢者に多い表在癌は、高分化で緩徐な発育をきたすことが多く、均一な組織であることが多い。浸潤癌との違いを分子レベルで解明するために、頭頸部癌腫瘍内heterogeneityの分子群の解析を行う。これにより頭頸部癌のheterogeneityの発生メカニズムが解明されれば治療抵抗性に関する極めて有用な基礎的情報を提供するとともに、従来のTNM分類だけによることのない個々人、特に高齢者に最も適した治療の施行が期待できる。更に腫瘍組織周囲の非がん組織の解析をあわせて行い、各腫瘍蜂巣への増殖と抑制を試みる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの表在癌は発育が緩徐で、これまでの浸潤癌とは異なる臨床像を示すことが多い。病理組織検査ではそのmorphologyに差がなく、同一の扁平上皮癌として認識されている。網羅的遺伝子検査でも違いは明らかになっていない。その理由として、これまでの研究の多くが多症例間での比較にあり、同一腫瘍内での腫瘍の変化や周囲間葉組織の検討に対応していなかったためと考える。我々の研究では緩徐な発育を示す表在癌と進行癌となる浸潤癌を比較するところに重点を置きたい。今回は臨床研究のみの開示であるが、引き続き分子発現の結果を免疫染色を用いて行っている。

研究成果の概要（英文）：Superficial cancer, which is common in the elderly, is often well-differentiated and slowly develops, and is often a uniform tissue. In order to elucidate the difference from invasive cancer at the molecular level, we will analyze the molecular group of heterogeneity in head and neck cancer tumors. If this elucidates the mechanism of development of heterogeneity in head and neck cancer, it will provide extremely useful basic information on treatment resistance, and will provide the most suitable treatment for individuals, especially the elderly, who are not based solely on the conventional TNM classification. Enforcement can be expected. Furthermore, analysis of non-cancerous tissue around the tumor tissue is also performed to try to grow and suppress each tumor nest.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：高齢者頭頸部癌 表在癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌治療は手術治療におけるデバイスの変化や新たな照射線源の開発、また化学療法においても免疫チェックポイント阻害剤の出現によりパラダイムシフトを迎えている。しかし、現状では予後をドラスティックに変化させるようなブレイクスルーは起こっていない。ベンチワークにおいても次世代シーケンサーをはじめとする網羅的遺伝子変異解析が進み、肺癌や乳癌、大腸癌においては種々の遺伝子発現・変異が臨床応用され、治療選択に欠かせないマーカーとなっている。他方、頭頸部癌においては他癌で報告されたような遺伝子変化はまれであり、症例選択における重要な因子とはならないことが我々の研究からも明らかになっている (BMC genomics, 2012, 筆者等)。米国の主な頭頸部癌治療・研究施設で行われた 500 例にも及ぶ The Cancer Genome Atlas (TCGA) でもすでに遺伝子発現、変異、プロテオームのデータが公開され、解析可能となっているが、これほどの Big Data も TNM 分類を超えるような予測因子とはなりえていない。

ヒト乳頭腫ウイルス (Human Papilloma Virus: HPV) 感染の有無は、2017 年の中咽頭癌 TNM 分類にも採用される予後予測マーカーとなった。HPV 陽性中咽頭扁平上皮癌は、陰性癌にくらべ低分化であることが多いが、予後は比較的に良い。一般に癌は低分化になるほど悪性度が高くなり、それに相関して予後も悪化すると考えられるのに対し、低分化の HPV 陽性癌の予後が良いのは逆説的である。

そこで我々は、分化度が低下するにつれて上皮間葉転換が進むことに注目し、上皮系、間葉系のマーカーの発現をそれぞれの群で検討した。HPV 陽性癌で上皮間葉転換を認めたのは 13% だったが、HPV 陰性癌においては 35% に間葉転換と考えるべき部分的な上皮系マーカー E-cadherin 発現の低下を認め、発現に heterogeneity が見られた症例の予後は不良であった。(図) このことから、頭頸部扁平上皮癌症例においては、上皮間葉転換に基づく同一腫瘍内での heterogeneity が治療効果に関与していることは明らかである

一方、高齢者に多い表在癌は、高分化で緩徐な発育をきたすことが多く、均一な組織であることが多い。これを踏まえ本研究では、従来培ったパイオインフォマティクス技術を駆使し、トランスクリプトーム、エクソーム、およびプロテオーム解析技術を導入してその頭頸部癌腫瘍内 heterogeneity の分子群の解析を行う。これにより頭頸部癌の heterogeneity の発生メカニズムが解明されれば治療抵抗性に関する極めて有用な基礎的情報を提供するとともに、従来の TNM 分類だけによることのない個々人、特に高齢者に最も適した治療の施行が期待できる。更に腫瘍組織周囲の非がん組織の解析をあわせて行い、各腫瘍蜂巣への増殖と抑制を試みる。

2. 研究の目的

今回の研究での独自性は多症例ではなく、それぞれの特徴的な臨床的背景を持つサンプル、同一腫瘍内での特徴的な癌蜂巣およびその周囲間葉組織のオーム解析を行うことにある。この研究には病理組織の識別能力と微小サンプルからの良質な DNA、RNA、タンパク質抽出の能力が必要である。当研究では細胞株だけではなく、当施設病理部、バイオバンクで保存している多数の臨床検体を用い最も精緻なサンプル抽出法である Laser microdissection 法を用いて同一組織内の異なる癌蜂巣からサンプルを抽出することで、

実際の頭頸部癌組織における独立した癌蜂巢のシグナル伝達系を比較し、同一組織中の heterogeneity を検討できる。これによりモザイク状である腫瘍組織内の各間葉組織及び各癌蜂巢のクロストークを明らかにすることで、分子標的治療、免疫チェックポイント阻害薬といった個別化医療に欠かせない治療マーカーの同定や治療標的そのものとなる分子を同定できる。これまでの盲目的なサンプル選択ではなく治療感受性の良いサンプル、悪いサンプルを用いて、この heterogeneity を上皮間葉転換、免疫、シグナル伝達といったそれぞれの遺伝子群に分けた解析を癌組織だけでなく周囲間葉組織で行う。現在、新たながん治療として臨床応用され、大きな成果を上げている免疫チェックポイント阻害剤においては癌周囲組織の免疫寛容機構が大きく関与している。周囲間葉組織の免疫機構の解明は免疫チェックポイント阻害剤使用に対する大きなマーカーとなるだけでなく、相乗効果をきたす新たなターゲット分子の発見につながる。また腫瘍の浸潤能に關与する遺伝子の Signature を同定することで、未だ明らかにされていない癌化のメカニズムに踏み込みたい。

3. 研究の方法

本研究では、初年度に我々のもつ多数の頭頸部扁平上皮癌症例の凍結標本から Laser microdissection 法で同一組織内の癌蜂巢及び間葉組織を組織の分子マーカー発現に従い個別に採取 (図 2)し、翌年以降 RNA およびタンパク質を用いてそのエクソーム解析、mRNA 発現、タンパク質発現解析を行う。データの質が確認できた上で、最終年度にはバイオフォマティクスアプローチによって上皮間葉転換・腫瘍免疫関連遺伝子、シグナル伝達に関連した分子群を抽出し、その発現によってクラスター解析を行う。同定された分子群のシグナル系相互のクロストークへの影響は頭頸部癌細胞株を用いてトランスフェクションおよびノックダウンを行い、その上下流にある分子への影響を検証する。

まずは臨床データから高齢者頭頸部癌として良好なサンプルの抽出を試みる意味で下記に示す、高齢者頭頸部癌を検討している。

4. 研究成果

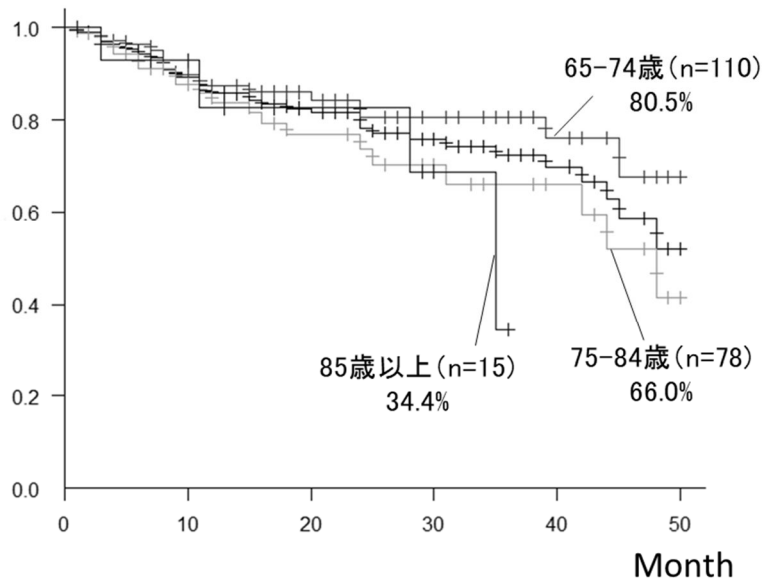
「癌と化学療法」 投稿中

高齢者頭頸部癌も対する臨床研究結果を示す。

< 65 歳以上の世代別頭頸部癌症例の予後 >

高齢者頭頸部癌の治療法を検討するに当たり、頭頸部癌を治療しても本当に生命予後を延ばす事ができるかどうかという問題点がある。図 1 は当院で 2016 年から 2018 年に実際に治療を受けた 65 歳以上 203 人の頭頸部扁平上皮癌患者の世代別の全 3 年生存率である。初診時より根治的治療不可能もしくは拒否症例によって Best Supportive Care(BSC)となったのは 7 例のみで、残りの 196 例に標準治療が試みられた。年代別に 65 歳以上 74 歳以下、75 歳以上 84 歳以下、85 歳以上の 3 群での全生存率を比較している。全生存率は 65 歳以上 74 歳以下の群では 80.5%、75 歳以上 84 歳以下の群では 66.0%、85 歳以上の群では 34.4% となった。やはり高齢になるに従い、治療後の全生存率は低くなる傾向にあるものの、症例数が少ないこともあるがこれら 3 群間に有意差はなかった。85 歳以上の症例数は 15 例と少ないものの、この群では標準的治療施行が必ずしも生存期間の延長には大局的には寄与していなかった。

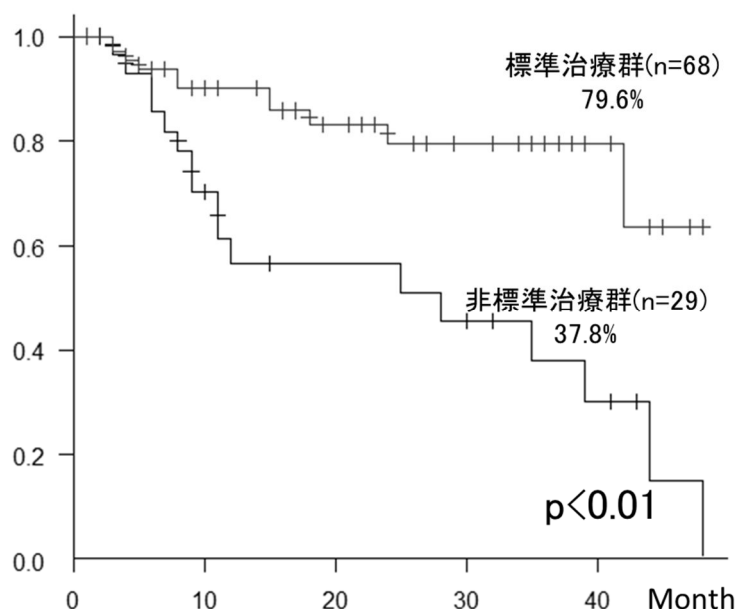
図1 高齢者年代別生存率



<主に手術による標準治療>

当院の高齢者頭頸部癌 203 症例で標準治療において、外科的切除を主とした 98 症例を検討した。ここでの非標準治療とは QOL のための姑息的切除もしくは断端陽性例で追加治療不能であったものとしている。気道確保のための気管切開や胃瘻造設は含んでいない。94 症例は予定していた標準治療となる術式で、縮小手術や、遊離皮弁手術を避ける術式を選んではない。このことから手術に関してはほとんど高齢者においても制限なく標準治療を施行することが可能と考える。別府等は 75 歳以上の口腔癌、中咽頭癌、下咽頭癌、喉頭癌症例における外科治療において、遊離皮弁を避けるといったことをせずに根治的標準治療を 208 例中 147 例に安全に施行することができ、また治療成績も壮年層の患者群の違いがなかったことを報告している。また姑息治療もしくは BSC を選択した症例の最も多い理由は本人の治療拒否であった。他の報告でも同様に考えられており、より侵襲の少ない手術と周術期のリハビリテーション等にさらなる工夫をして入院期間の短縮を試みたい。

図2 放射線及び化学放射線療法標準治療群と非標準治療群における全生存率



<放射線単独もしくは化学放射線療法を用いた標準治療>

放射線治療 (RT) もしくは化学放射線療法 (CRT) を行った 97 例では 68 例で予定通りの治療を完遂できたが、29 症例では姑息的照射や放射線治療の中断、化学療法中止などにより非標準治療となった。高齢者では全身状態や認知機能、社会的要因によって延命や緩和を目的とした RT を主体とした保存的治療となるケースが多くなる。図 2 には標準治療、非標準治療それぞれの群の全生存率を示す。標準治療群では 79.6% であるが、非標準治療群では 37.9% と極端に生存率が低下する。このことから高齢者の治療成績の向上には標準治療への適応率を上げる事が重要である。頭頸部癌の放射線治療については治療期間における経口摂取障害に伴う栄養障害と誤嚥性肺炎への対応が挙げられる。当院での根治照射量は 65 - 70 Gy であり、7 週間から 8 週間の期間が必要になる。この 2 ヶ月程の入院期間での体重減少率は 10% にも及ぶ。入院中はベッド上で過ごす時間が長く、活動量が在宅時よりも低下することが多く、体組成では脂肪率が高くなり骨格筋量が減少する傾向が多い。65 歳以上の高齢者の 6~12% 程度がサルコペニアに該当すると考えられており、高齢頭頸部癌患者ではよりその傾向が高くなることが想定される。当院でも治療前の嚥下評価、栄養サポートチームによる栄養管理の他、入院中の積極的なリハビリテーション、歯科医による口腔ケア、緩和ケア医による疼痛管理などのチーム医療による支持療法を並行して行うことで、早期癌における放射線治療は十分可能である。高齢者への治療で問題となる認知症の発症と増悪の予防については、サポートする同居家族の協力が得られる環境であればできる限り通院での照射とし、生活環境の維持を図る。入院で行う場合はリエゾン精神科医に初期から積極的に関わってもらうことが予防策となる。コロナ禍では入院中の外泊制限や面会制限もあり苦労している。

頭頸部進行癌での化学療法の併用では、Pignon 等による解析では 71 歳以上の高齢者にはその上乗せ効果がないことが報告されている。(12) 現在の標準的な CRT はプラチナベースのものであるが、藤井等は 75 歳以上の高齢者でも全身状態が良好で有害事象の制御ができれば標準 CRT は可能で、他病死を含めた生存率を向上し、治療の上乗せ効果が見込めることを報告しており、Moye 等も 70 歳以上での化学療法の上乗せ効果があるとしている。当院では 75 歳以上であっても PS、また頭頸部癌の予後に最も重要な因子でもある腎機能が良好な症例ではプラチナベースの標準的 CRT を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 oki yamato, hatakeyama hiromitsu	4. 巻 5
2. 論文標題 Intraductal Carcinoma of the Parotid Gland Presenting as Parapharyngeal Mass	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedicine hub	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） 10.1159/000511677	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 該当する

1. 著者名 島山 博充	4. 巻 71
2. 論文標題 喉頭外傷の治療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本気管食道学会会報	6. 最初と最後の頁 100-101
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2468/jbes.71.100	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 島山博充	4. 巻 92
2. 論文標題 膠原病による口腔・咽頭粘膜疾患	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 耳喉頭頸	6. 最初と最後の頁 128-131
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 島山博充	4. 巻 92
2. 論文標題 耳鼻咽喉科領域の外傷を診る！ 頸部外傷	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 耳喉頭頸	6. 最初と最後の頁 527-531
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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hiromitsu Hatakeyama
2. 発表標題 Real-world treatment procedure and outcome in the elderly patients with laryngeal cancer
3. 学会等名 Cutting Edge Laryngology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiromitsu Hatakeyama
2. 発表標題 Real-world treatment procedure of laryngeal disease for elderly patients with serious complications
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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------