

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10344

研究課題名（和文）標準治療抵抗性口腔扁平上皮癌における標的可能遺伝子変異の同定と個別化治療の確立

研究課題名（英文）Identification of targetable genetic mutations and establishment of personalized therapy in standard therapy-resistant oral squamous cell carcinoma

研究代表者

筋生田 整治 (Asoda, Seiji)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：80296706

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：当科で手術した口腔扁平上皮癌の検体において実施された遺伝子パネル検査の解析結果と病理組織像の違いについての検討を行ったところ、Actionable変異（治療標的としての介入が期待される遺伝子変異）の数と悪性度の相関性を見出した。すなわち、Actionable変異が多い方が臨床病理学的な悪性度を示すWPOI分類のgradeが高いことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Actionable変異数が予後や治療抵抗性を規定する指標となり得るかについて検討し、Actionable変異数やCD44v関連分子に基づいた発現プロファイルを構築することにより、治療開始前に予後や化学放射線療法の有効性を予測できる個別化治療法の確立を目指している。

研究成果の概要（英文）：We performed a study of the results of gene panel testing performed on specimens of oral squamous cell carcinoma operated on in our department and the differences in histopathology, and found a correlation between the number of Actionable mutations and grade of malignancy. In other words, the higher the number of Actionable mutations, the higher the grade of WPOI classification, which indicates clinicopathologic malignancy.

研究分野：口腔がん

キーワード：口腔扁平上皮癌 遺伝子パネル検査 CD44v

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

従来の口腔がん治療は、手術療法、化学療法、放射線療法の三者を単独あるいは併用することによって行われてきた。その中でも、手術は物理的に腫瘍組織を除去できることから、主たる治療法として位置づけられているが、咀嚼、嚥下、構音機能の保持や審美的な側面からは臓器温存可能な治療法が求められる。近年、動注を含む化学療法と放射線療法の併用により、手術回避可能な症例が増えてきた。しかしながら、悪性度による治療法の選択基準がなく、特に未分化・低分化癌では従来の抗がん剤に抵抗性を示し、予後不良となりやすい。また、低分化癌を含む希少がんは発生頻度が低く、大規模試験が不可能であることから治療のエビデンスに乏しく、現状では扁平上皮癌を想定して認可された頭頸部領域の薬剤を用いざるを得ない。一方で、近年、がんゲノム医療が導入され、遺伝子変異に応じた治療法が検討可能になってきている。このため、難治性の扁平上皮癌や希少がんにおいては、バスケット試験(がん種を限定せず、特定の遺伝子異常・タンパク質発現などを有する患者集団に対して、それに適した薬剤を用いる治験)を実施するなど、遺伝子パネル検査の結果から最適な薬剤が使えるようになることが望まれる。またその結果により、術前に化学療法や放射線療法の感受性が判定できれば、感受性の低い腫瘍には手術を適用し、感受性の高い腫瘍には臓器温存可能な化学放射線療法を適用するといった個別化治療が可能となることが期待される。申請者らはこれまでに、癌の悪性度及び治療抵抗性を規定する重要な現象である上皮間葉転換(EMT)および幹細胞様性質に着目し、これらの現象に関わるCD44vの口腔扁平上皮癌における機能的役割の解析を進めてきた。そして、CD44vが高発現している口腔扁平上皮癌細胞株では、従来の抗がん剤(シスプラチン)感受性が低く、xCTシスチントランスポーターの特異的阻害剤であるスルファサラジン投与が効果的であることを見出してきた(Yoshikawa M, Asoda S, Saya H, et al. *Cancer Research* 2013 (図1))。これらの研究結果を基にスルファサラジンを用いた臨床試験を開始し、無増悪生存期間延長を示唆する結果が得られており、現在臨床応用直前となっている。

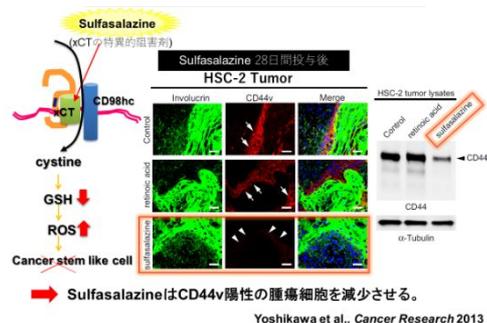


図 1.スルファサラジンの治療効果

また、癌間質に着目し、難治性の低分化口腔扁平上皮癌である紡錘細胞癌の検体を用いて特異的細胞表面マーカーや、その細胞特性評価を行い、病理診断のみでは予測できない細胞の性質や機能を明らかにしてきた。紡錘細胞癌は扁平上皮癌のサブタイプの1つであるが、主に間葉系細胞から構成されることを解明し、消化管間質腫瘍の治療薬であるイマチニブによる新規治療の可能性を見出した(Ouchi, Morikawa, Yoshikawa, Saya, Asoda, et al. *Journal of Dental Research* 2018)(図2)。すなわち、われわれはすでに遺伝子異常に基づく治療法選択の可能性を示してきた。

しかしながら、これまでCD44vや低分化癌特異的マーカーの発現意義については明らかにされていない。そこで本研究では、前述の紡錘細胞癌のように、現状の薬剤適応に合わない難治性の低分化口腔扁平上皮癌において、遺伝子解析と細胞学的特性評価を組み合わせることで、悪性度に基づいた個別化治療を確立する。最終的には、上皮と間葉それぞれに効果的な薬剤・放射線を組み合わせるコンビネーション治療で、難治性癌の根治を目指す。

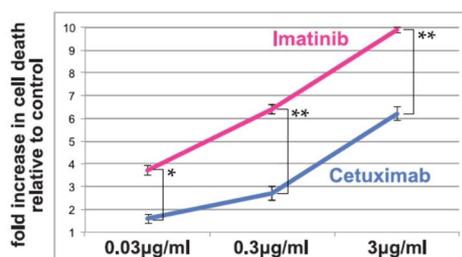


図 2.紡錘細胞癌に対するイマチニブの治療効果

2. 研究の目的

現在のがん治療は臓器特異的であり、いまだ多くの領域で、腫瘍の性質ではなく発生部位で治療法が決まっている。悪性度の違いによる治療法の選択基準がなく、特に低分化癌において従来の抗がん剤に抵抗性を示し、予後不良となることが問題となっている。申請者らはこれまでに、癌の悪性度及び治療抵抗性に関わる EMT/癌幹細胞マーカーCD44vの口腔扁平上皮癌における機能的役割の解析を進めてきた。また、癌間質に着目し、上皮のみならず間葉細胞を標的とした治療の可能性について検討してきた。そこで本研究では、難治性の低分化癌を中心とした口腔扁平上皮癌において遺伝子パネル検査および分子レベルでの解析を加え、CD44vの発現と新規マーカーによる悪性度に基づいた個別化治療の確立を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 当科で手術した口腔扁平上皮癌において、遺伝子パネル検査を行い、特異的な遺伝子発現の変化を解析した。
- (2) (1)で得られた遺伝子発現の変化が、悪性度および予後と相関するかについて、被験者検体を用いて検討した。
- (3)PDX モデルの作製を行い、今後の治療実験を目指す。

4. 研究成果

(1) 当科で手術した口腔扁平上皮癌の検体において、実施された遺伝子パネル検査の解析結果と病理組織像の違いについての検討を行ったところ、遺伝子変異としては TP53、CDKN2A、TMB-high、non-mutation が多くみられたが、検体数の関係も含めて統計的な有意差はでなかった。しかし、遺伝子変異が多いと budding が高くなりやすく、また高齢者では遺伝子変異数が多いという傾向が確認できた。遺伝子変異数と飲酒・喫煙との相関性は認めなかった。

(2)Actionable 変異 (治療標的としての介入が期待される遺伝子変異)が多い方が臨床病理学的な悪性度を示す WPOI 分類の grade が高いことが明らかとなった。今後は、Actionable 変異数が予後や治療抵抗性を規定する指標となり得るかにについて検討し、Actionable 変異数や CD44v 関連分子に基づいた発現プロファイルを構築することを目指す。遺伝子パネル検査と従来の病理解析を併用することで、病理診断のみでは困難であったがん細胞の生物学的悪性度や予後の類推が可能となると考える。これにより治療開始前に予後や化学放射線療法の有効性を予測できる個別化治療法の確立が期待できる。

表 1. Actionable 変異数と悪性度(WPOI)

WPOI	Type1				Type2				Type3				Type4											
年齢	40	46	73	70	76	73	81	88	85	79	38	62	61	66	79	64	39	77	77	41	72	83	62	
Tumor budding	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	H	H	H	H	H	H	L	
喫煙																								
飲酒																								
遺伝子変異の有無																								TP53
																								CDKN2A
																								TMB-high
																								ARD1A
																								KDM6A
																								RB1
																								FUBP1
																								MDM2
																								EGFR
																								MUTYH
																								MEN1
																								TSC2
																								STK11
																								SMARCA4
																							SMARCB1	
																							PIK3CA	
																							HRAS	

(3) 口腔扁平上皮癌組織を直接免疫不全マウスに移植し腫瘍を再現する、患者腫瘍組織移植 (patient-derived xenograft: PDX) モデルの作製を行った。PDX モデルは患者のがん組織の特徴を保持できるため、最も腫瘍の臨床状態に近いモデルとして腫瘍の臨床病態解析や薬剤開発への活用が期待されている。今後、得られた標的遺伝子での治療の可能性を検討していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡崎 章悟、吉川 桃子、相馬 智也、筋生田 整治、今井 健一、後飯塚 僚、佐谷 秀行、永野 修
2. 発表標題 FOXA1 suppresses oral cancer progression through inhibiting p38 activation induced by lipid-derived aldehydes
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡崎 章悟、中野 友暉、吉川 桃子、相馬 智也、筋生田 整治、後飯塚 僚、佐谷 秀行、永野 修
2. 発表標題 Transcription factor FOXA1 is a negative regulator for xCT-dependent tumor formation in oral cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黄地 健仁、森川 暁、高橋 萌、吉川 桃子、相馬 智也、宮下 英高、河奈 裕正、中川 種昭、筋生田 整治
2. 発表標題 紡錘細胞癌における間葉系幹細胞の同定とPDGFR 阻害薬を用いた細胞死の誘導
3. 学会等名 第74回 日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉川桃子、黄地健仁、森川暁、高橋萌、相馬智也、宮下英高、河奈裕正、佐谷秀行、中川種昭、筋生田整治
2. 発表標題 舌に発生した紡錘細胞癌は間葉系幹細胞の性質をもつ
3. 学会等名 第64回 日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川桃子、黄地健仁、森川暁、芝田晋介、高橋萌、相馬智也、宮下英高、村岡渡、亀山香織、河奈裕正、有馬好美、佐谷秀行、岡野栄之、中川種昭、蒔生田整治
2. 発表標題 口腔に発生した再発紡錘細胞癌における間葉系幹細胞の同定
3. 学会等名 第43回 日本頭頸部癌学会
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	森川 暁 (Morikawa Satoru) (00424169)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師 (32612)	
研究分担者	黄地 健仁 (Uuchi Takehito) (30803564)	東京歯科大学・歯学部・助教 (32650)	
研究分担者	吉川 桃子 (Yoshikawa Momoko) (50570967)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師(非常勤) (32612)	
研究分担者	佐谷 秀行 (Saya Hideyuki) (80264282)	藤田医科大学・がん医療研究センター・センター長 (33916)	

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
---------	---------