

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18705

研究課題名（和文）病理像と血液循環核酸による口腔癌動注化学放射線療法の予後予測システムの構築

研究課題名（英文）Construction of a prognostic prediction system for oral cancer intra-arterial infusion chemoradiotherapy based on pathological features and blood circulating nucleic acids

研究代表者

林 雄一郎 (HAYASHI, Yuichiro)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：80806464

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）：口腔癌の治療法は外科的切除が第一選択であり、早期癌の場合は根治も見込める。しかし病変部を大きく切除する場合、術後の摂食嚥下障害や審美性の低下が問題となる。また進行癌の場合は手術後に再発や転移を認める症例も少なくない。

口腔癌に対して行われる動注化学放射線療法（動注）は進行症例や高齢者にも高い治療効果を示す一方、治療抵抗性を示す症例や再発症例も存在する。従って動注の治療反応性を判定する手法の開発が望まれている。本研究の目的は病理組織像や血液 cell free RNA に注目し、治療効果判定システムを構築することである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢社会において、口腔癌の罹患率、死亡率は増加傾向にある。口腔癌の標準治療は外科的切除であるが、術後の機能・整容の温存が問題となる。近年は全身化学療法の開発も進み広く利用されているが、有害事象の発生を伴うことも多い。我々は、非手術療法として動注の開発とその有用性の検討を行ってきた。病変を切除せずに進行癌に対して高い治療効果が期待できることを報告している一方で、再発症例や治療効果が乏しい症例も存在する。

本研究は、動注施行前後の病理組織学的な検討や治療反応性を判定するシステムの開発を目指した。本研究成果は、より効果的で安全に動注を行う基盤構築へつながる。

研究成果の概要（英文）：A surgical resection is the first-choice treatment for oral cancer, and in the case of early-stage cancer, a complete cure can be expected. However, the postoperative dysphagia and deterioration of esthetics become problems when a large lesion is resected. In addition, in the case of advanced cancer, there are some cases of the recurrence or metastasis after the surgical resection. Intra-arterial infusion chemotherapy concurrent with radiotherapy (IACRT) for oral cancer shows a high therapeutic effect in advanced cases and the elderly, but there are also treatment-resistant and recurrent cases. Therefore, it is desired to develop a technique for determining the therapeutic response for IACRT. The purpose of this study is to establish a system, which detects the therapeutic effect by focusing on histopathological features and blood cell free RNA.

研究分野：Head and neck cancer

キーワード：Oral cancer

1. 研究開始当初の背景

口腔癌に対する標準治療は外科的切除であり、早期癌の場合は根治も見込める。しかし病変部を大きく切除する場合、術後の摂食嚥下障害や審美性の低下が問題となる。また進行癌の場合は手術後に再発や転移を認める症例も少なくない。セキツシマブなどの分子標的薬を用いた化学療法も行われるが、副作用の出現など問題点も多い。

我々は、口腔癌に対する超選択的動注化学療法(以下、動注)の開発に取り組んできた¹⁾。耳前部からカテーテルを挿入し、口腔癌を栄養している動脈に抗癌剤を注入する手法である。高濃度の抗癌剤が癌に行き渡るとともに放射線治療を同時に行うことが可能で、病変を切除せず進行癌に対して高い治療成績が期待できる。

しかし治療後フォローアップ中に再発する症例や、少ないながらも治療効果が乏しい症例も存在する。動注の治療反応性を予測し、動注施行中に治療効果を客観的にモニターする手法の登場が望まれている。また治療後の再発を可能な限り早く検出する方法を開発することも重要であるが、これまでに報告はない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔癌に対して動注を安全・確実に遂行するために、治療効果予測・判定システムを確立することである。症例毎の特異的な病理組織像から治療反応性を検討し、特定の血液分泌型 microRNA (miRNA) の増減を検出して腫瘍の縮小・再発をモニターすることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 病理組織学的検討

横浜市立大学 歯科口腔外科で、過去に動注を行った症例(扁平上皮癌と唾液腺癌)の病理標本を収集した。特に、治療前後の病理標本が揃っている症例で、動注に効果を示さなかった症例や治療後に再発した症例に焦点を当て、HE 標本による病理学的検索を行った。

(2) 血液分泌型 miRNA の検索

データベース上で公開されている網羅解析を再解析して、発現変動のモニターに適する miRNA の検索を行った。

4. 研究成果

(1) 扁平上皮癌の病理組織像

過去に動注を行った症例のなかで、腫瘍残存を認めた扁平上皮癌検体について検索した。同一患者で動注施行前後の病理標本が揃っている 1 例について、HE 標本を病理組織学的に検討した。動注前の生検では、腫大した不整な核を有する異型扁平上皮細胞が、充実性、シート状胞巣を形成しながら増殖する像が認められた。また明瞭な角化を伴っていた。

一方、動注後の生検では、線維化が著明な病変内で、複数の癌細胞が集団を形成し島状に点在していた。個々の癌細胞は変性を伴うものもあったが、多くは viable で腫大した核を有し、核分裂像も認められた。標本上で検索する限りでは角化は明らかではなかった。炎症細胞浸潤も乏しかった。

(2) 唾液腺癌の病理組織像

唾液腺癌に対して動注を行った 7 例について検索した。組織学的に 4 例は腺様嚢胞癌で、残りは粘表皮癌と腺癌 NOS であった。このうち治療が奏功しなかった 2 例(腺様嚢胞癌と粘表皮癌)について、動注前後の HE 標本を病理組織学的に検討した。

腺様嚢胞癌は、治療前では篩状構造を伴った癌胞巣が認められた。癌細胞の異型は乏しく

核分裂像も目立たなかった。治療後は、著明な線維化を伴った癒痕組織のなかで癌細胞が充実に増殖していた。生検前にみられた篩状構造はほとんど確認されなかった。濃染した核をもつ変性した癌細胞もみられたが、viableな癌細胞が大部分を占めていた。

粘表皮癌の治療前の症例では、粘液細胞と類表皮細胞が混在し、少数の中間細胞もみられた。腺腔形成が目立ち高分化型と考えられた。治療後では線維化がみられる組織で、治療前とほぼ同様の粘液細胞、類表皮細胞が観察された。治療前と比較して腺腔はやや小さく、一部には類表皮細胞が主体である充実性胞巣も認められた。

(3) 血液分泌型 miRNA の解析候補の検討

公表されているデータをもとに、口腔癌に関連した血液分泌型 miRNA の検索を行った。NCBI の GEO (Gene Expression Omnibus) に登録されているデータを検索し、GSE121848²⁾ の gene expression microarray の再解析を行った。口腔の正常線維芽細胞と口腔癌組織の線維芽細胞の培養上清中の分泌型 miRNA の発現を比較した。口腔癌における線維芽細胞の培養液で発現が増加するものには miR-708 (fold change 42.03)、miR-196a (fold change 8.15)、miR-21 (fold change 2.42) などが挙げられた。発現が低下するものとしては、miR-29b (fold change -8.80)、miR-4788 (fold change -5.46)、miR-1208 (fold change -4.88) などであった。

ヒト検体への応用前に、正常ラットから採取した血漿を使い、血液分泌型 miRNA を RT-qPCR で測定する予備実験を行った。様々な癌で発現が増加する miR-21 を標的として RT-qPCR を行ったところ、感度良く検出可能であることを確認した。

< 引用文献 >

- 1) Hayashi Y, Osawa K, Nakakaji R, Minamiyama S, Ohashi N, Ohya T, Iida M, Iwai T, Ozawa T, Oguri S, Koizumi T, Hirota M, Kioi M, Hata M and Mitsudo K: Prognostic factors and treatment outcomes of advanced maxillary gingival squamous cell carcinoma treated by intra-arterial infusion chemotherapy concurrent with radiotherapy. *Head Neck* 41: 1777-1784, 2019. PMID: 30966786. DOI: 10.1002/hed.25607.
- 2) Qin X, Guo H, Wang X, Zhu X, Yan M, Wang X, Xu Q, Shi J, Lu E, Chen W and Zhang J: Exosomal miR-196a derived from cancer-associated fibroblasts confers cisplatin resistance in head and neck cancer through targeting CDKN1B and ING5. *Genome Biol* 20: 1-21, 2019. PMID: 30642385. DOI: 10.1186/s13059-018-1604-0.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 IDETA YUKA、TAGAWA TAKANOBU、HAYASHI YUICHIRO、BABA JUNICHI、TAKAHASHI KIMIKO、MITSUDO KENJI、SAKURAI KOUHEI	4. 巻 18
2. 論文標題 Transcriptomic Profiling Predicts Multiple Pathways and Molecules Associated With the Metastatic Phenotype of Oral Cancer Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Genomics - Proteomics	6. 最初と最後の頁 17 ~ 27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/cgp.20238	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0件

〔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
---------	---------