

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10079

研究課題名(和文) データ解析から見出した口腔扁平上皮がんの治療標的と予後予見因子候補の解析

研究課題名(英文) Analysis of candidate factors for the treatment and biomarker of oral squamous cell carcinoma by data driven

研究代表者

土生 学 (Mabu, HABU)

九州歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：00360058

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)：口腔扁平上皮癌において潜在的頸部リンパ節転移を予測するバイオマーカーを検討するため、TCGAを利用し頭頸部癌において予後相関があると考えられる因子について検索を行ったところ、DKK1の関与が指摘できた。われわれは舌扁平上皮癌54例におけるDKK1ならびにその受容体であるCKAP4の発現に注目し、頸部リンパ節転移との関連を調べた。その結果、舌扁平上皮癌においてDKK1とCKAP4が共に陽性であった患者は、有意に頸部リンパ節に転移を認めた。以上よりDKK1およびCKAP4の同時発現は舌扁平上皮癌における潜在的頸部リンパ節転移の可能性予測できる有効なバイオマーカーである可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔癌において頸部リンパ節転移の有無は予後を左右する重要な因子である。しかし、明らかな頸部リンパ節転移がない症例に、積極的な予防的治療を行うかについては、意見が分かれている。今回の研究では、大規模データベース解析を利用することで、予後と関連があると思われるタンパク質を抽出し、口腔癌における頸部リンパ節転移症例とこのタンパク質との関連を調べることで、潜在的な頸部リンパ節転移の予測因子にできるのではないかと考えた。結果、DKK1とCKAP4というタンパク質が共に発現している症例では、高頻度に頸部リンパ節転移が認められたことから、頸部リンパ節転移に対する有効なバイオマーカーとなり得ると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In order to investigate biomarkers predicting potential cervical lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma, we used TCGA to search for factors thought to be correlated with prognosis in head and neck cancer, and we found that DKK1 was involved. We focused on the expression of DKK1 and its receptor CKAP4 in 54 cases of tongue squamous cell carcinoma and investigated its relationship with cervical lymph node metastasis. As a result, patients with tongue squamous cell carcinoma who were positive for both DKK1 and CKAP4 were significantly more likely to have metastasis to the cervical lymph nodes. These results suggest that the simultaneous expression of DKK1 and CKAP4 may be an effective biomarker for predicting the possibility of potential cervical lymph node metastasis in tongue squamous cell carcinoma.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔扁平上皮癌 潜在的頸部リンパ節転移 バイオマーカー DKK1 CKAP4

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

口腔に発生する悪性腫瘍のほとんどは扁平上皮癌であり、治療後5年以内の局所再発、頸部リンパ節転移および肺などへの遠隔転移が生命予後に影響する。特に頸部リンパ節転移の有無は予後を左右する重要な因子である。しかし、画像や臨床診断では頸部リンパ節転移がないと判断されても、術後早期に好発頸部リンパ節転移が発覚することも多く、機能や予後に影響する。近年、このような潜在的リンパ節転移に対して、臨床診断や画像、病理組織像などからさまざまな予測因子が報告されているが、これらの予測因子だけをもって予防的頸部郭清を行うかを判断することについては、議論の余地がある。そこで本研究では、口腔扁平上皮癌治療において潜在的頸部リンパ節転移を予測するバイオマーカーとして有用な因子を見出すことを目的とした。

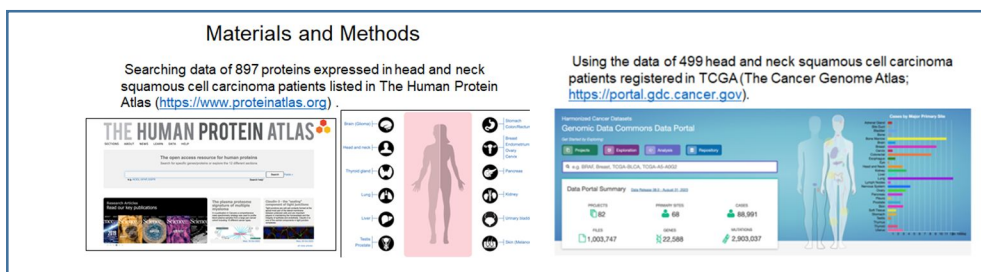
### 2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌において潜在的頸部リンパ節転移を予測するバイオマーカーを検討するため、データベース解析を利用し、頭頸部癌において予後相関があると考えられる因子について網羅的に検索を行い、上位にある因子について、頸部リンパ節転移との関連を臨床的、組織学的および免疫組織化学的に評価し、潜在的頸部リンパ節転移の予測マーカーに利用できるかについて検討する。

### 3. 研究の方法

実験1. The Human Protein Atlas に掲載されている頭頸部扁平上皮癌患者で発現しているタンパク質のデータを集積する。続いて、TCGA (The Cancer Genome Atlas) に登録されている頭頸部扁平上皮癌患者 499 人における、検索したタンパク質の発現量、予後、診断後からの経過観察期間に関するデータを集積する(図1)。これらのデータをもとに、統計ソフト EZR を用いて Kaplan-Meier 曲線を書き、群間の比較を log-rank 検定で行い、P 値 0.05 未満を統計学的に有意差ありとした。

図1.



実験2. 2015-2020年の間に九州歯科大学において全身麻酔下で手術を行った舌扁平上皮癌 cT1-4N0 一次症例である 54 例を対象に、実験1で検索されたタンパク質の発現について、臨床的、病理組織学的および免疫組織化学的に頸部リンパ節転移との相関について検討した。

### 4. 研究成果

実験1. TCGAによる頭頸部扁平上皮がん患者499人のがん組織に発現する遺伝子量と生存率の相関を調べた結果(図2)、予後に関連があるとされる遺伝子の一つに DKK1 とその受容体である CKAP4 が最も上位に挙げられた(図3)。

図2.

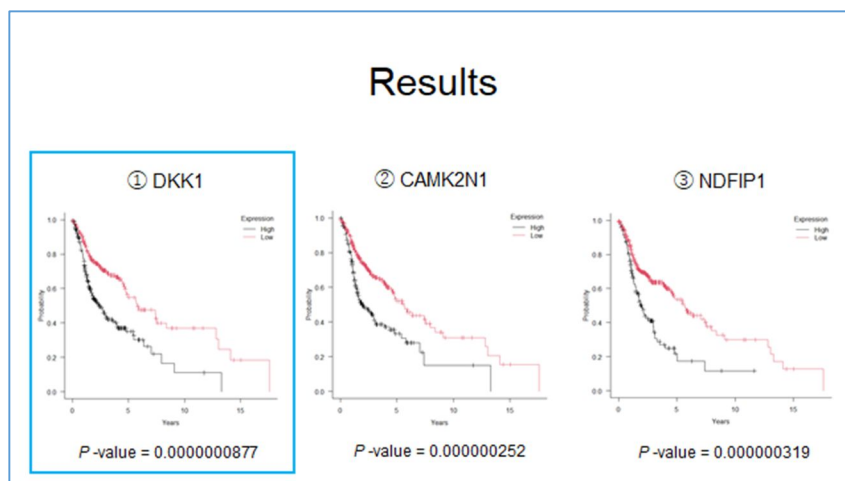
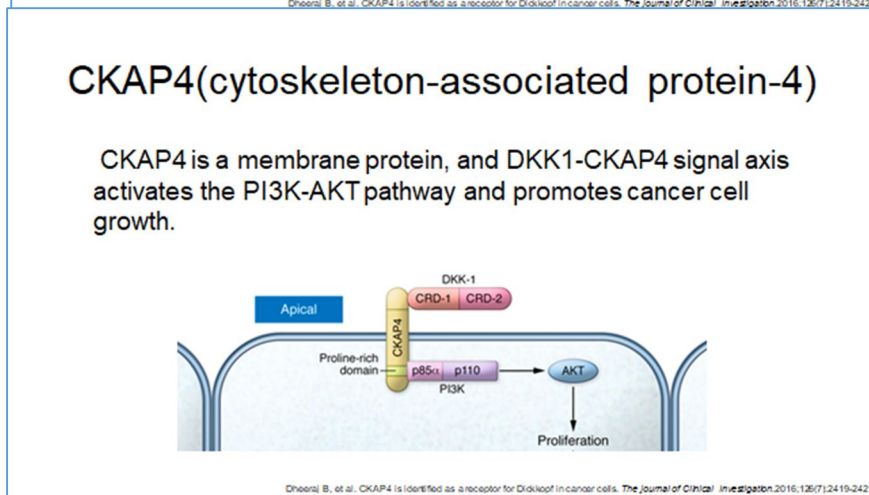
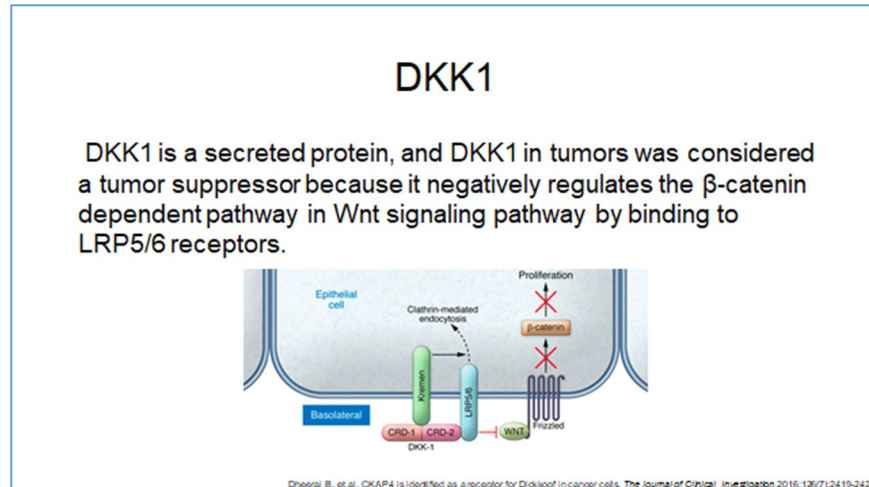
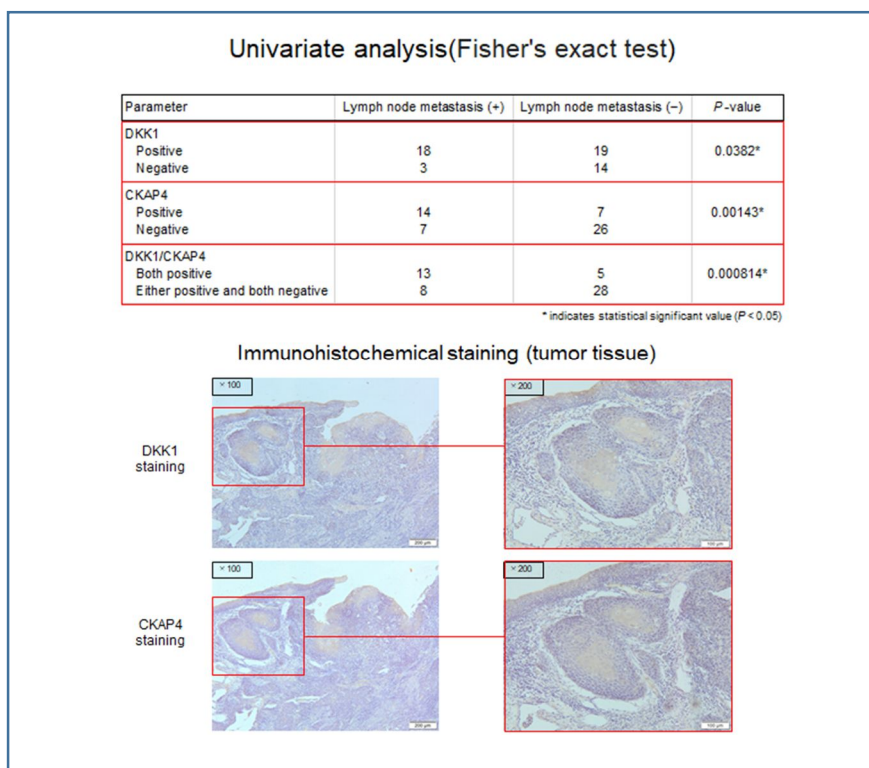


図 3.



実験 2. 舌扁平上皮癌 cT1-4N0 一次症例である 54 例のうち、潜在的頸部リンパ節転移は 21 例に認められた。これらの頸部リンパ節転移に関係する因子として、病理組織学的に脈管侵襲および神経周囲浸潤が、免疫組織化学的には DKK1 と CKAP4 が共に陽性であった患者は、これらのマーカーのいずれか一方のみが陽性であった患者、または共に陰性であった患者に比べて有意に頸部リンパ節に転移を認めた (図 4)。

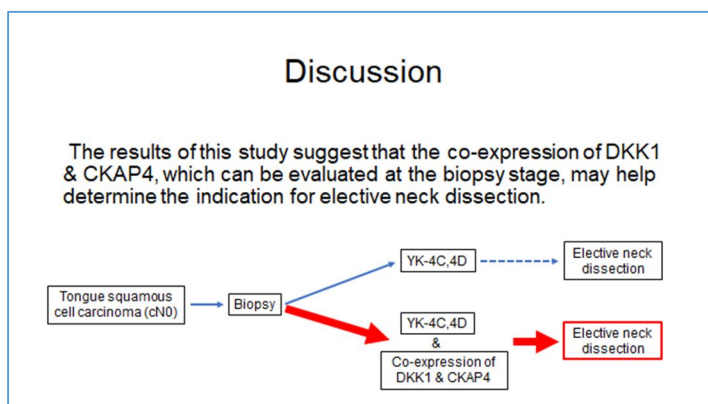
図 4.



結論および考察：

cT1-4N0 舌扁平上皮癌症例における頸部リンパ節転移に係る因子として、データベース解析より得た DKK1 は頸部リンパ節転移と相関を認め、さらに DKK1 とその受容体である CKAP4 の同時発現はより頸部リンパ節転移との相関を認めた。DKK1 および CKAP4 の共発現の有無が、頸部リンパ節転移の予測因子として活用できる可能性が示唆された（図 5）。

図 5.



DKK1 は分泌タンパク質であり、CKAP4 はエクソソームとともに細胞外に分泌されることが判明しており、血液検査で測定可能と考えられる。そこで術前の採血で発現の上昇、術後で発現の減少が認められれば、後発頸部リンパ節転移や再発の際の早期診断のバイオマーカーとして利用できる可能性もあり、今後さらに検討を重ねる予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Kazuya Haraguchi, Manabu Habu et al  | 4. 巻<br>15          |
| 2. 論文標題<br>Human telomerase reverse transcriptase protein expression is associated with survival in patients with oral squamous cell carcinoma                                       | 5. 発行年<br>2022年     |
| 3. 雑誌名<br>Int J Clin Exp Pathol.   | 6. 最初と最後の頁<br>29-37 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |
| 1. 著者名<br>Yamagata Mayuka, Higashi Sen, Yaida Noboru, Ichihara Akane, Habu Manabu, Sasaguri Masaaki, Tominaga Kazuhiro, Takeuchi Hiroshi   | 4. 巻<br>1           |
| 2. 論文標題<br>Enhanced degradation of epidermal growth factor receptor by metformin   | 5. 発行年<br>2023年     |
| 3. 雑誌名<br>Oral Science International   | 6. 最初と最後の頁<br>1-9   |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1002/osi2.1179   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |
| 1. 著者名<br>Haraguchi K, Habu M, Yada N, Sasaguri M, Yoshioka I, Tominaga K  | 4. 巻<br>15          |
| 2. 論文標題<br>Human telomerase reverse transcriptase protein expression is associated with survival in patients with oral squamous cell carcinoma                                       | 5. 発行年<br>2022年     |
| 3. 雑誌名<br>Int J Clin Exp Pathol  | 6. 最初と最後の頁<br>29-37 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |
| 1. 著者名<br>Yoshiga Daigo, Yoshioka Izumi, Habu Manabu, Sasaguri Masaaki, Tominaga Kazuhiro  | 4. 巻<br>-           |
| 2. 論文標題<br>Effective ancillary role and long-term course of daily or weekly teriparatide treatment on refractory medication-related osteonecrosis of the jaw: a clinical case series | 5. 発行年<br>2021年     |
| 3. 雑誌名<br>British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery  | 6. 最初と最後の頁<br>-     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.bjoms.2021.10.004   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                               |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Fukuda Hikaru, Sato Shinobu, Zou Tingting, Higashi Sen, Takahashi Osamu, Habu Manabu, Sasaguri Masaaki, Tominaga Kazuhiro, Takenaka Shigeori, Takeuchi Hiroshi | 4. 巻<br>50                    |
| 2. 論文標題<br>Substituent effects of cyclic naphthalene diimide on G-quadruplex binding and the inhibition of cancer cell growth  | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters   | 6. 最初と最後の頁<br>128323 ~ 128323 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bmcl.2021.128323   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>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<br>-                     |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Haraguchi Kazuya, Yoshiga Daigo, Oda Masafumi, Tabe Shirou, Mitsugi Sho, Takahashi Osamu, Habu Manabu, Sasaguri Masaaki, Morimoto Yasuhiro, Yoshioka Izumi, Tominaga Kazuhiro | 4. 巻<br>131             |
| 2. 論文標題<br>Depth of invasion determined by magnetic resonance imaging in tongue cancer can be a predictor of cervical lymph node metastasis   | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology  | 6. 最初と最後の頁<br>231 ~ 240 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.oooo.2020.07.005  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件)

|                                     |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>土生 学                     |
| 2. 発表標題<br>顎顔面補綴の観点から考える顎骨再建 シンポジウム |
| 3. 学会等名<br>第39回日本顎顔面補綴学会総会 (招待講演)   |
| 4. 発表年<br>2022年                     |

|                                   |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名<br>土生 学                   |
| 2. 発表標題<br>みんなで学ぶ顎関節症の鑑別疾患 シンポジウム |
| 3. 学会等名<br>第35回日本顎関節学会総会 (招待講演)   |
| 4. 発表年<br>2022年                   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>土生 学                                |
| 2. 発表標題<br>骨格性 級症例に対する上顎単独骨切り術の適応と術式の要点 シンポジウム |
| 3. 学会等名<br>第32回日本顎変形症学会総会（招待講演）                |
| 4. 発表年<br>2022年                                |

|                             |
|-----------------------------|
| 1. 発表者名<br>藤田浩範、土生 学        |
| 2. 発表標題<br>予防的顎部郭清術の適応を再考する |
| 3. 学会等名<br>日本口腔腫瘍学会         |
| 4. 発表年<br>2022年             |

|                                  |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名<br>土生 学                  |
| 2. 発表標題<br>予防的顎部郭清術の適応と注意すべきポイント |
| 3. 学会等名<br>日本口腔外科学会（招待講演）        |
| 4. 発表年<br>2021年                  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>土生 学                                      |
| 2. 発表標題<br>放射線性骨髄炎による病的下顎骨骨折に対して遊離肩甲骨皮弁による硬性再建を行った一例 |
| 3. 学会等名<br>日本口腔顎顔面外傷学会                               |
| 4. 発表年<br>2021年                                      |

|                             |
|-----------------------------|
| 1. 発表者名<br>藤田浩範、土生 学        |
| 2. 発表標題<br>予防的頸部郭清術の適応を再考する |
| 3. 学会等名<br>日本口腔腫瘍学会         |
| 4. 発表年<br>2021年             |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                   | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)         | 備考 |
|-------|---|-------------------------------|----|
| 研究分担者 | 松原 琢磨<br>(MATSUO Takuma)<br><br>(00423137)  | 九州歯科大学・歯学部・准教授<br><br>(27102) |    |
| 研究分担者 | 矢田 直美<br>(YADA Naomi)<br><br>(60468022)     | 九州歯科大学・歯学部・准教授<br><br>(27102) |    |
| 研究分担者 | 柳沼 樹<br>(YAGINUMA Itsuki)<br><br>(60845064) | 九州歯科大学・歯学部・助教<br><br>(27102)  |    |

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 |
|---------|---------|