

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861103

研究課題名(和文)HPV感染由来の頭頸部癌の新規・放射線抵抗性分子マーカーに関する研究

研究課題名(英文)Research on new biomarker of radiotolerance in HPV associated head and neck cancer

研究代表者

宮脇 大輔(MIYAWAKI, DAISUKE)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30546502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：放射線抵抗性とNuclear factor- κ B(NF- κ B)との関連について検討を行った。放射線治療前にNF- κ Bの発現がみられた症例は再発しやすい傾向があった。再発例の組織像においてもNF- κ Bの発現が確認できた。NF- κ Bについては放射線治療抵抗性の指標の一つとなり得ることが分かった。NF- κ B以外の分子生物学的マーカーについてはEGFR、bcl-2等において検討を行ったが、放射線治療抵抗性との関連は見いだせなかった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to evaluate nuclear factor-kappaB (NF-KappaB) as a marker of radioresistance in oropharyngeal carcinomas. Immunohistochemistry was performed using pretreatment biopsy specimen to evaluate the presence of NF-kappaB expression in these tumor. Similar experiments was performed in subgroups of recurrent tumor specimens. The prognostic value of other molecular markers such as Bcl-2 and epidermal growth factor (EGF) receptor were also evaluated and compared with NF-kappaB. NF-kappaB expression in pretreatment tumors correlated with local tumor control. NF-kappaB expression may be a novel marker of radioresistance in oropharyngeal carcinomas. Bcl-2 and EGF receptor expression did not correlate with radioresistance.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：放射線腫瘍学 放射線抵抗性 放射線治療

1. 研究開始当初の背景

放射線治療は、近年ではコンピューターを用いた3次元治療計画からIMRT、粒子線治療と目覚ましい進歩を遂げている。現在も新しい技術が次々と導入されつつあり更なる発展が見込まれる。しかし、技術的な発展のみで究極の治療成績を求めることは困難である。更なる成績の向上には分子生物学的な研究が必須であり、当研究室では早くから発癌に広く関与するとされるNF- Bに注目してきた。そして、NF- Bと放射線抵抗性について調べるために、放射線治療単独で治療される代表的な癌腫である早期喉頭癌を取り上げ、NF- Bが放射線抵抗性のマーカーとなることを世界で初めて臨床材料を用いて証明し、論文として頭頸部癌領域のJournalである*Head and Neck*に”Nuclear Factor- B Expression As A Novel Marker Of Radioresistance In Early-stage Laryngeal cancer”というタイトルで掲載されている。頭頸部癌においてはBcl-2、Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)などの生物学的マーカーと放射線治療に関する報告は散見されるが、NF- Bに関しては我々の報告が最初であり非常に先駆的な位置にあると言える。最近増加傾向にある中咽頭癌についても同様の検討を行い、さらにHPV感染との関連性についても目を向けていくことは非常に重要である。

2. 研究の目的

中咽頭癌の治療では生命予後と共に機能温存が重視されるため、臓器・機能温存に優れた放射線治療が中心になることが多い。最近の報告では子宮頸癌と同様、頭頸部癌でもHPV(ヒトパピローマウイルス)感染が発癌に深く関与していることが分かっており、HPV陽性例では陰性例に比べ予後が良い傾向にあることも分かってきている。しかしHPV陽性例の中にも、治療抵抗性で予後不良群がある。そこでわれわれは分子生物学的な側面に注目し、Nuclear factor- B (NF- B)という炎症や発癌に密接に関係すると考えられているマーカーと、HPV感染の指標であるp16免疫染色を用いて中咽頭癌の放射線抵抗性・感受性に関する検討を行う。

3. 研究の方法

A) 放射線治療前の検体(生検検体)を用いたNF- Bの放射線予測因子としての有効性の検討:

入手可能な中咽頭癌の放射線治療前の検体(生検標本)に対して、p16による免疫染色により、HPV感染の有無を検討する。またNF- B発現の有無についても免疫染色により検討する。また再発群、非再発群においてその発現率の差異が統計的に有意

かどうかを検討する。

B) 救済手術検体を用いた再発腫瘍についての検討:

喉頭癌に関する研究では、再発腫瘍においてNF- B発現が増強されるというデータがある。これに基づいて再発腫瘍の救済手術の検体を出来るだけ入手し、上記と同様の免疫染色を行い、増強の有無を確認する。

C) NF- B以外のマーカーについての検討:

放射線抵抗性と分子生物学的マーカーとの関係はEGFR、bcl-2等においても積極的に研究が行われており、本研究でもそれらについて検討しNF- Bとの比較を行う。

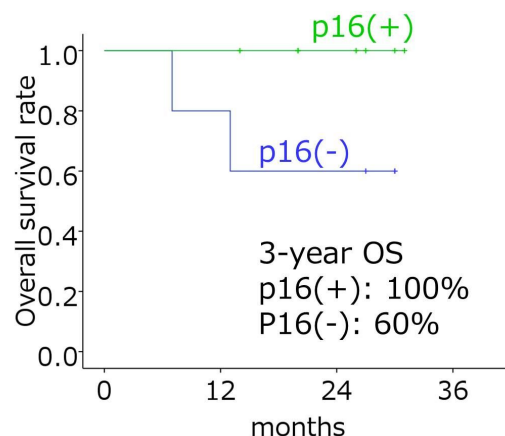
D) 放射線治療におけるNF- B阻害剤の臨床応用の可能性についての検討(In vivo / In vitro):

臨床応用への第一段階として、培養細胞レベル(In vivo)及び実験動物レベル(In vitro)でNF- B阻害剤が放射線抵抗性腫瘍に及ぼす影響を検討する。

4. 研究成果

A) 放射線治療前の検体(生検検体)を用いたNF- Bの放射線予測因子としての有効性の検討:

2001年1月から2011年12月に当院で放射線治療を施行した症例は全部で47例であり、そのうち22例において、p16の過剰発現がみられることが分かった。p16過剰発現の有無により層別化した場合、生存率はp16過剰発現陽性例が高かった。



放射線抵抗性とNF- Bとの関連については、放射線治療前の生検検体においてNF- Bの発現がみられた症例は再発しやすい傾向があった。

B) 救済手術検体を用いた再発腫瘍についての検討:

再発症例の救済手術時の摘出検体の組織像においても NF- B の発現が確認できた。NF- B について、放射線治療抵抗性の指標の一つとなり得ることが分かった。

C) NF- B 以外のマーカーについての検討:

Bcl-2, Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) について検討を行ったが、再発した検体と Bcl-2, EGFR の発現の一定の傾向はみられなかった。今回検討を行った Bcl-2 もしくは EGFR と、放射線治療抵抗性との関連は見いだせなかった。

D) 放射線治療における NF- B 阻害剤の臨床応用の可能性についての検討 (In vivo / In vitro):

動物モデルを用いた研究については、現在遂行中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Harada A, Sasaki R, Miyawaki D, Yoshida K, Nishimura H, Ejima Y, Kitajima K, Saito M, Otsuki N, Nibu K, Treatment outcomes of the patients with early glottic cancer treated with initial radiotherapy and salvaged by conservative surgery, *Jpn J Clin Oncol*. 2015 Mar;45(3):248-55. doi: 10.1093/jjco/hyu203.

Akasaka H, Sasaki R, Miyawaki D, Mukumoto N, Sulaiman NS, Nagata M, Yamada S, Murakami M, Demizu Y, Fukumoto T. Preclinical evaluation of bioabsorbable polyglycolic acid spacer for particle therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2014 Dec 1;90(5):1177-85. doi: 10.1016/j.ijrobp.2014.07.048.

Kitajima K, Suenaga Y, Kanda T, Miyawaki D, Yoshida K, Ejima Y, Sasaki R, Komatsu H, Saito M, Prognostic value of FDG PET imaging in patients with laryngeal cancer. *PLoS One*. 2014 May 12;9(5):e96999. doi: 10.1371/journal.pone.0096999.

Nakayama M, Yoshida K, Nishimura H, Miyawaki D, Uehara K, Okamoto Y, Okayama T, Sasaki R, Effect of heterogeneity correction on

dosimetric parameters of radiotherapy planning for thoracic esophageal cancer, *Med Dosim*. 2014 Spring;39(1):31-3. doi: 10.1016/j.meddos.2013.09.001.

Sasaki R, Miyawaki D, Current status and future of the radiotherapy for pancreas cancer, *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi*. 2013 Dec;110(12):2073-80.

[学会発表](計 10 件)

D. Miyawaki, Y. Ejima, H. Uezono, K. Yoshida, H. Nishimura, N. Otsuki, K. Nibu, R. Sasaki, Result of Multimodal Treatment Including Radiation Therapy for Squamous Cell Carcinomas of Maxillary Sinus: A Retrospective Study, *ASTRO's 56th Annual Meeting*, 2014.9.14-18, San Francisco (USA)

M Nakayama, N Mukumoto, H Akasaka, D Miyawaki, H Nishimura, K Umetani, N Nariyama, T Kondoh, K Shinohara, R Sasaki, Dose Estimation Of Normal Brain Tissue Tolerance For Microbeam Radiation Therapy, *ASTRO's 56th Annual Meeting*, 2014.9.14-18, San Francisco (USA)

D Miyawaki, Y Ejima, K Yoshida, H Nishimura, N Kiyota, N Otsuki, K Nibu, R Sasaki, Radiation Induced Hypothyroidism in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck, *The 15th Asian Oceanian Congress of Radiology*, 2014.9.24-28, Kobe (JAPAN)

R Sasaki, H Akasaka, D Miyawaki, NS Sulaiman, Y Demizu, S Yamada, M Murakami, T Fukumoto, Intra-abdominal space modulated radiotherapy: Safety and efficacy of absorbable spacer in particle therapy, *European Society for Radiotherapy & Oncology 33*, 2014.4.4-8, Vienna (Austria)

H Akasaka, R Sasaki, I Takayama, M Nakahana, NS Sulaiman, D Miyawaki, K Yoshida, Y Ejima, H Uezono, Y Mizushima, A Novel Radiosensitizer, Monogalactosyl diacylglycerol, Enhanced the Cytotoxic Effects for the Pancreatic Cancer, *European Society for Radiotherapy & Oncology 33*, 2014.4.4-8, Vienna (Austria)

D. Miyawaki, H. Nishimura, K. Yoshida,

Y. Ejima, N. Kiyota, M. Saito, N. Otsuki, K. Nibu, K. Sugimura, R. Sasaki, Ten Year Experience with Combined Modality Therapy Including Radiotherapy for Squamous Cell Carcinomas of Oropharynx, 2013 European Congress of Radiology, 2013.3.7-11, Vienna (Austria)

〔図書〕(計 1 件)

宮脇 大輔 他、メディカル教育研究社、チームで取り組む乳がん放射線療法、乳がん放射線療法の有害事 - 頭部 -、2013、2

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)
該当なし

取得状況(計 0 件)
該当なし

〔その他〕

ホームページ等
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮脇 大輔 (MIYAWAKI, Daisuke)
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：30546502