

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460463

研究課題名(和文) 頭頸部がんにおける癌・幹細胞関連分子の臨床的応用法の開発

研究課題名(英文) Development of clinical application method of cancer / stem cell related molecule in head and neck cancer

研究代表者

森 泰昌 (Mori, Taisuke)

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医員

研究者番号：00296708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部扁平上皮がんでは、幹細胞関連分子であるEpCAMを過剰発現している腫瘍は放射線抵抗性であることを明らかとした。これらは臨床に直結した研究成果といえる。EpCAMの発現は通常がんの診断に用いられる微細な生検標本を用い、免疫組織学的検査での判定が容易であることは、臨床的な応用を可能とすると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Head - and - neck squamous cell carcinoma, which overexpresses EpCAM, a stem cell - related molecule, was found to be radioresistant. These can be said to be research results directly linked to clinical practice. The expression of EpCAM was thought to make clinical application possible by using microscopic biopsy specimens usually used for diagnosis of cancer and easy to judge by immunohistological examination.

研究分野：人体病理

キーワード：頭頸部癌 扁平上皮癌 幹細胞関連分子

1. 研究開始当初の背景

頭頸部がんは、その複雑な解剖学的な形態から切除範囲の設定が難しく、再発のリスクも高い。これまで頭頸部がんの治療方針としては外科的手術に加えて化学療法、放射線療法を組み合わせられているが、再発した場合2次的な手術は組織の血流が乏しく再建手術が困難となることが少なくない。また再発例では、化学療法、放射線療法に対して抵抗性を有することが多く治療を困難としている。近年では、幹細胞的に自己生存能の高い「Stem-like cancer」を形成し、化学療法、放射線療法に対して抵抗性を有することが報告されている。申請者はこれまで一貫し、がんにおける幹細胞関連分子の関与について研究を行ってきた。幹細胞維持に働くポリコム遺伝子である Bmi-1 が骨髄間質細胞の不死化、未分化能の維持に重要な働きを示すこと (Mori et al, *MCB*, 2005)。さらに、多数の臨床検体を用いた詳細な検討から、早期肝細胞癌から有意に高発現し肝発癌のイニシエーターとなること、また Bmi-1 と高い相関を持って多剤耐性分子である ABCB1 が発現し、がん幹細胞的な性質を獲得していることを明らかにした (Mori et al, *Cancer Sci.* 2010)。さらに Bmi1 が早期扁平上皮がんの、HMGA2 が予後不良の診断マーカーなることや膜貫通型糖たんぱく質であり、幹細胞のマーカーとしても知られている。Epithelial cell adhesion molecule (EPCAM) が一部の頭頸部扁平上皮癌のグループで高発現することを論文として報告した (Mori et al, *Lab Invest.* 2013)。このように幹細胞関連分子の機能が治療抵抗性がんの理由となることを基礎的な研究において明らかにしている。しなしながら、これらの分子発現が、実際の治療診断として有用であるか否かの具体的な検討は現在まで行われていない。本研究は、これまでの基礎研究成果を具体的な臨床応用へと進める意義を有している。

2. 研究の目的

頭頸部扁平上皮がんの幹細胞に関連分子を中心とした網羅的な解析から EPCAM, YBX1, Bmi1, HMGA2, 等の幹細胞関連分子が頭頸部癌の形質に關与することを明らかにしてきた (Lab Invest. 2013)。これらの知見に基づき、特に EPCAM の発現ないしの変化が化学療法、放射線療法などの治療抵抗性がんへのトランスフォーム機構を司ることを臨床病理組織学的な手法を用いて解明する。具体的な目的は、“幹細胞関

連分子が治療方針の決定するため病理診断マーカーとなり得るかの解析”ならびに“臨床応用への検討である。

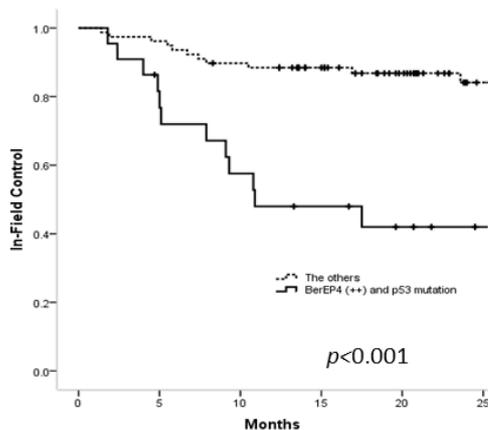
3. 研究の方法

病理組織学的な手法を用いて癌と幹細胞に共通して発現する蛋白等の解析を臨床情報とともにプロスペクティブな治療前と治療後再発例から検討を行う。同様に治療前後の試料を収集し in vitro においてそれぞれの腫瘍の有するゲノム変異を解析、腫瘍の形質の変化と腫瘍内での多様性の評価、クラスター分類を行う。病理学的な評価として特に生検検体から、再発、非再発の確度の高い臨床応用可能な診断マーカーとなり得るかの評価検討を行った。

4. 研究成果

1. 頭頸部扁平上皮がんでの放射線照射例における EPCAM の発現強度を p53, p16 等の既知の予後推定因子との比較から、各分子の発現パターンによるクラスター分類を行った。また、転移・再発などの臨床データとの関連を調べ、各分子が悪性度や予後の推定、治療法の選択のマーカーとして有益であるかを解析した。100 例の頭頸部扁平上皮癌 (口腔 12, 中咽頭 26, 下咽頭 19, その他 15 例; ステージ 14, ステージ 26, ステージ / 40 例) を解析した。EPCAM は 100 例中 29 例に高発現が認められ、2 年全生存率はステージ / で 95%, ステージ / で 71% であった ($p=0.017$)。一方、EPCAM/p53 の共高発現群の 2 年全生存率は 50.6%、非発群では 89.0% ($p<0.01$) であった。多変量解析においても EPCAM/p53 のステータスは疾患ステージとともに独立した予後因子であった (図 1)。また、放射線療法単独治療が選択された早期喉頭癌において EPCAM の発現は放射線療法後の再発にと有意に相関した (図 2)。本研究は日々行われている実臨床に大きな影響を与え得る、臨床に直結した研究といえる。というのも、EPCAM の発現は通常がんの診断に用いられる生検標本を用い、免疫組織学的検査で容易に調べられるため普及しやすいからである。また、EPCAM は頭頸部がんに限らず、他の癌腫にも発現していることが確認されるため、本研究は他の癌腫においても EPCAM と放射線療法の関係を探るとい

う将来への発展性も有す。更に、EpCAMが放射線抵抗性の中心的な役割を担っていることが証明されれば、将来的にEpCAMをターゲットとした薬剤と放射線療法との併用により、放射線療法の治療成績の向上に貢献できることが期待される。



(図 1)

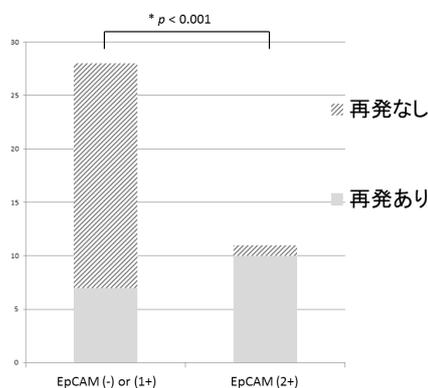


図2 早期喉頭がん放射線療法後の再発の有無とEpCAMの発現の関係

(図 2)

2 .

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 15 件)

1: Matsumoto F, Mori T, Matsumura S, Matsumoto Y, Fukasawa M, Teshima M, Kobayashi K, Yoshimoto S. Prognostic significance of surgical extranodal extension in head and neck squamous cell carcinoma patients. Jpn J Clin Oncol. 2017 Apr 18;1-6. doi: 10.1093/jjco/hyx055. (査読有)

2: Kobayashi K, Mori T, Matsumoto F, Murakami N, Teshima M, Fukasawa M, Matsumoto Y, Matsumura S, Itami J, Asai M, Yoshimoto S. Impact of microscopic orbital periosteum

invasion in orbital preservation surgery. Jpn J Clin Oncol. 2017 Apr;47(4):321-327. doi: 10.1093/jjco/hyw207. (査読有)

3: Asano N, Yoshida A, Ichikawa H, Mori T, Nakamura M, Kawai A, Hiraoka N. Immunohistochemistry for trimethylated H3K27 in the diagnosis of malignant peripheral nerve sheath tumours. Histopathology. 2017 Feb;70(3):385-393. doi:10.1111/his.13072. (査読有)

4: Kobayashi K, Matsumoto F, Kodaira M, Mori T, Murakami N, Yoshida A, Maki D, Teshima M, Fukasawa M, Itami J, Asai M, Yoshimoto S. Significance of delayed primary excision in localized nonmetastatic adult head and neck rhabdomyosarcoma. Cancer Med. 2016 Oct;5(10):2708-2714. doi:10.1002/cam4.855. (査読有)

5: Maki D, Mori T, Teshima M, Kobayashi K, Matsumoto F, Sakai A, Okami K, Yoshimoto S. Chondrosarcoma of the hyoid bone - Report of a case and a literature review of the suitable treatment strategy. Auris Nasus Larynx. 2016 Oct 18. pii: S0385-8146(16)30366-2. doi: 10.1016/j.anl.2016.09.004. (査読有)

6: Okamura T, Izumo T, Yagishita H, Mori T, Sakamoto K, Harada K. Disordered arrangements of basal cells as a prognostic factor for oral epithelial dysplasia: a morphometric study of 96 cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016 Sep;122(3):355-61. doi: 10.1016/j.oooo.2016.05.005. (査読有)

7: Murakami N, Matsumoto F, Yoshimoto S, Ito Y, Mori T, Ueno T, Tuchida K, Kashiwara T, Kobayashi K, Harada K, Kitaguchi M, Sekii S, Umezawa R, Takahashi K, Inaba K, Igaki H, Itami J. Patterns of recurrence after selective postoperative radiation therapy for patients with head and neck squamous cell carcinoma. BMC Cancer. 2016 Mar 7;16:192. doi: 10.1186/s12885-016-2229-x. (査読有)

8: Ohtomo-Oda R, Komatsu S, Mori T, Sekine S, Hirajima S, Yoshimoto S, Kanai Y,

Otsuji E, Ikeda E, Tsuda H. SMYD2 overexpression is associated with tumor cell proliferation and a worse outcome in human papillomavirus-unrelated nonmultiple head and neck carcinomas. *Hum Pathol.* 2016 Mar;49:145-55. doi:10.1016/j.humpath.2015.08.025. (査読有)

9: Yoshida A, Goto K, Kodaira M, Kobayashi E, Kawamoto H, Mori T, Yoshimoto S, Endo O, Kodama N, Kushima R, Hiraoka N, Motoi T, Kawai A. CIC-rearranged Sarcomas: A Study of 20 Cases and Comparisons With Ewing Sarcomas. *Am J Surg Pathol.* 2016 Mar;40(3):313-23. doi:10.1097/PAS.0000000000000570. (査読有)

10: Ito J, Suzuki S, Yoshida A, Mori T. Primary intraocular synovial sarcoma in the post retinal detachment operative state. *BMJ Case Rep.* 2015 Aug 6;2015. pii: bcr2015209919. doi:10.1136/bcr-2015-209919. (査読有)

11: Yoshida A, Yoshida H, Yoshida M, Mori T, Kobayashi E, Tanzawa Y, Yasugi T, Kawana K, Ishikawa M, Sugiura H, Maeda D, Fukayama M, Kawai A, Hiraoka N, Motoi T. Myoepithelioma-like Tumors of the Vulvar Region: A Distinctive Group of SMARCB1-deficient Neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2015 Aug;39(8):1102-13. doi:10.1097/PAS.0000000000000466. (査読有)

12: Yazawa M, Mori T, Nakayama Y, Kishi K. Basic study of soft tissue augmentation by adipose-inductive biomaterial. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2015 Jan;103(1):92-6. doi:10.1002/jbm.b.33180. (査読有)

13: Murakami N, Mori T, Yoshimoto S, Ito Y, Kobayashi K, Ken H, Kitaguchi M, Sekii S, Takahashi K, Yoshio K, Inaba K, Morota M, Sumi M, Itami J. Expression of EpCAM and prognosis in early-stage glottic cancer treated by radiotherapy. *Laryngoscope.* 2014 Nov;124(11):E431-6. doi:10.1002/lary.24839. (査読有)

14: Toriyama A, Mori T, Sekine S, Yoshida A, Hino O, Tsuta K. Utility of

PAX8 mouse monoclonal antibody in the diagnosis of thyroid, thymic, pleural and lung tumours: a comparison with polyclonal PAX8 antibody. *Histopathology.* 2014 Oct;65(4):465-72. doi:10.1111/his.12405. 24592933. (査読有)

15: Sakeda A, Mori T, Suzuki S, Ochiai A. Adenocarcinoma of the pigmented ciliary epithelium. *BMJ Case Rep.* 2014 Jul 11;2014. pii: bcr2014204534. doi:10.1136/bcr-2014-204534. (査読有)

〔学会発表〕(計 13 件)

〔図書〕(計 6 件)

1. 森 泰昌 文光堂 病理と臨床 臨時増刊号 3 4 癌の分子病理学 頭頸部癌・口腔癌 2016, p380-383.
2. 森 泰昌他 文光堂 第 4 版スタンダード病理学 2016, p269-274
3. 森 泰昌、落合淳志 文光堂 腫瘍病理鑑別診断アトラス 頭頸部 上気道、咽頭、口腔の表層上皮腫瘍 2015, p15-20.
4. 森 泰昌、落合淳志 文光堂 腫瘍病理鑑別診断アトラス 頭頸部 腺癌 2015, p62-64.
5. 森 泰昌、落合淳志 文光堂 腫瘍病理鑑別診断アトラス 頭頸部 未分化癌 2015, p65-70.
6. 森 泰昌、落合淳志 文光堂 腫瘍病理鑑別診断アトラス 頭頸部 腫瘍類似疾患 2015, p91-93.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
国立研究開発法人
国立がん研究センター・中央病院・医員
森 泰昌 (Mori, Taisuke)
研究者番号: 00296708

(2)研究協力者

吉本 世一 (Yoshimoto, Seiichi)

伊丹 純 (Itami, Jun)