

平成 21 年 4 月 27 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591966

研究課題名 (和文) p53 遺伝子変異を指標とした頭頸部進行癌に対するテーラーメイド治療の確立

研究課題名 (英文) Individualized therapy for advanced head and neck squamous cell carcinoma in terms of p53 gene mutation

研究代表者

猪原 秀典 (INOHARA HIDENORI)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00273657

研究成果の概要:化学放射線同時併用療法で加療した頭頸部進行癌未治療新鮮例 90 例について、年齢、性、分化度、部位、TNM 分類、抗癌剤、p53 遺伝子変異、ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染が予後因子となるか否か検討した。単変量解析では HPV 感染が正の相関を、p53 disruptive mutation が負の相関を示したが、多変量解析では HPV 感染にのみ相関を認めた。従って、HPV 感染が独立した予後良好因子であることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・頭頸部外科学

キーワード：頭頸部扁平上皮癌、化学放射線同時併用療法、p53、ヒトパピローマウイルス

1. 研究開始当初の背景

頭頸部進行癌に対する標準治療は手術士術後照射であるが、手術により喉頭や舌などを摘出すると、音声言語機能や嚥下機能が障害され QOL は著しく低下し、身体障害者となることも少なくない。そこで近年では、頭頸

部進行癌の治療において臓器温存を目的として、放射線に加えて抗癌剤を同時に投与する化学放射線同時併用療法が根治手術の代替治療として脚光を浴びている。しかし、化学放射線同時併用療法後に相当数の症例において原発巣が再発し救済手術が必要とな

る。救済手術では初回治療として行った手術と比べ、合併症が比較的多く、局所が制御できないことも少なくない。また、再発時に腫瘍の病態が進行しており、救済手術を行うことが不可能なこともある。従って、臓器温存をより効率的に行い、更に高い生存率を確保するために、化学放射線同時併用療法の治療効果、予後を予測するマーカー、即ち、化学放射線同時併用療法の適応を決定するマーカーが希求されている。こうしたマーカーが確立されれば、それを指標として一次治療の段階で、頭頸部進行癌患者を手術と化学放射線同時併用療法の2群に振分ける所謂テーラーメイド治療が可能となる。

2. 研究の目的

化学放射線同時併用療法で加療する stage III/IV の頭頸部扁平上皮癌未治療新鮮例について、年齢、性、扁平上皮癌の分化度、原発部位、T 分類、N 分類、病期、併用抗癌剤の内訳、原発腫瘍の p53 遺伝子変異の有無、原発腫瘍のヒトパピローマウイルス (HPV) 感染の有無が予後因子となるかどうか前向きに検討する。p53 遺伝子変異については p53 の機能が喪失または大きく低下する disruptive mutation と機能が大きく変化しない nondisruptive mutation に分けて検討する。尚、disruptive mutation は stop mutation、frame shift mutation、DNA 結合ドメイン内の nonconservative mutation に相当する。mutation により置換されたアミノ酸において、アミノ酸の極性、電荷が変化しない場合を conservative mutation、変化する場合を nonconservative mutation という。

3. 研究の方法

(1) p53 遺伝子変異の検出

原発腫瘍の生検組織のホルマリン固定

パラフィン包埋標本から腫瘍部分を microdissection して腫瘍 DNA を抽出し、exon 4 から exon 8 についてそれぞれ特異的なプライマーを用いて PCR を行い、更に single-strand conformation polymorphism (SSCP) 解析を行い変異の有無についてスクリーニングを行う。変異があるものについては direct sequencing を行い塩基配列を決定する。

(2) HPV の検出

原発腫瘍の生検組織のパラフィン包埋標本から腫瘍部分を microdissection して腫瘍 DNA を抽出し、生検組織のホルマリン固定パラフィン包埋標本から腫瘍部分を microdissection して腫瘍 DNA を抽出し、HPV の E6-E7 遺伝子に対するプライマーを用いて PCR を行い、PCR 産物を DNA fragment analyzer で解析してそのサイズ(bp)を測定し、感染の有無を決定すると同時に感染している HPV のタイピングを行う。HPV16 の感染を認めた場合は、更に real-time PCR を行い、ウイルスがゲノムに組み込まれているか確認する。

(3) 統計学的解析

年齢、性、分化度、原発部位、T 分類、N 分類、病期、併用抗癌剤の内訳、原発腫瘍の p53 遺伝子変異の有無、原発腫瘍の HPV 感染の有無が、局所制御率、生存率と関連するかどうか Cox 比例ハザードモデルを用いて検討する。局所制御率、生存率については Kaplan-Meier 法により求め、有意差検定はログランクテストにより行う。

4. 研究成果

頭頸部扁平上皮癌 (下咽頭癌 46 例、中咽頭癌 38 例、喉頭癌 8 例) について解析した。

(1) HPV 感染は 26 例に認めた。HPV16 が 20 例と最も多く、その全例でウイルスはゲノムに組み込まれていた。HPV18 は 1 例に、HPV33 は 2 例に、HPV35 は 2 例に、HPV58 は

1 例に認めた。また、p53 遺伝子変異は 39 例に認めた。12 例が disruptive mutation、27 例が nondisruptive mutation であった。

(2) HPV 感染は中咽頭癌において、下咽頭癌、喉頭癌におけるよりも有意に高率に認められた。

(3) p53 遺伝子変異は下咽頭癌 46 例中 27 例 (58.7%)、中咽頭癌 38 例中 8 例 (21.1%)、喉頭癌 6 例中 4 例 (66.7%) に認め、中咽頭癌に少ない傾向があった。HPV 感染例を除いて解析すると、p53 遺伝子変異は下咽頭癌 41 例中 25 例 (61.0%)、中咽頭癌 17 例中 7 例 (41.2%)、喉頭癌 6 例中 4 例 (66.7%) となり、原発部位間で有意差を認めなかった。

(4) 単変量解析の結果、HPV 感染が局所制御率、生存率と正の相関を、p53 disruptive mutation が生存率と負の相関を示した。

(5) 多変量解析の結果、HPV 感染のみが局所制御率、生存率と相関を示した。

(6) 多変量解析の因子から HPV 感染の有無を除くと、単変量解析の際に認めた p53 disruptive mutation と生存率との負の相関は維持された。

(7) 一方、HPV 感染と p53 遺伝子変異には負の相関が認められ、特に disruptive mutation と負の粗間を示した。

(8) 従って、HPV 感染が独立した予後良好因子であることが明らかとなった。また、p53 disruptive mutation については HPV を解析に含めなければ独立した予後不良因子であるが、実際には HPV 感染は p53 disruptive mutation と強い負の相関があり、p53 disruptive mutation を独立した予後不良因子とすることはできないと考えられた。これは p53 遺伝子変異が予後因子かどうか解析する際には、p53 遺伝子変異と負の相関を示し、且つ独立した予後因子である HPV 感染の有無について解析することが必要不

可欠であることを強く示唆するものである。近年、多数例の頭頸部癌の手術症例における解析から、p53 disruptive mutation が独立した予後因子であることが示されている (LM, et al., New Engl J Med. 357:2552-2561, 2007.)。しかし、Poeta らはこの論文の中で HPV 感染についての解析をしていない。HPV 感染が喫煙・飲酒と同様に頭頸部扁平上皮癌の発癌因子であり、また、今回我々が示したように、化学放射線同時併用療法群では HPV 感染を多変量解析に加えると p53 disruptive mutation が独立した予後不良因子でなくなることに鑑みると、この論文の解釈には注意が必要である。手術加療した頭頸部癌において本当に p53 disruptive mutation が独立した予後不良因子となるか否かについては、改めて別の試験で HPV 感染の有無も解析に加えて前向きに検討することが必要である。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

猪原 秀典 (INOHARA HIDENORI)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：00273657

(2) 研究分担者

富山 要一郎 (TOMIYAMA YOICHIRO)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：20437320

(3) 連携研究者