

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20184

研究課題名(和文) 下咽頭癌に於ける接着斑キナーゼ(FAK)発現の分子生物学的役割と予後の検討

研究課題名(英文) Association between the molecular biological role of focal adhesion kinase and prognosis for hypopharyngeal carcinoma

研究代表者

小村 豪(Omura, Go)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：00601139

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)：下咽頭癌手術治療例において、原発巣のFAK高発現が予後、リンパ節転移個数、そして遠隔転移出現率に相関すること、下咽頭癌の発癌要因としてHPVは関与せず、ALDH2多型と飲酒量が寄与すること、TP53変異が予後に相関することを明らかにした。一方で、FAK発現がTP53あるいはPIK3CA遺伝子異常との関連をもたない可能性を明らかにした。

研究成果の概要(英文)： We demonstrated that upregulated expression of focal adhesion kinase (FAK) had a significant impact on prognosis, the number of metastatic LNs, and the incidence of distant metastases in surgically treated hypopharyngeal squamous cell carcinoma (HPSCC) patients, not HPV, but ALDH2 polymorphism and alcohol behavior correlated with the carcinogenesis of HPSCC, TP53 mutations had a significant impact on prognosis, in surgically treated HPSCC patients. In contrast, FAK does not correlated with TP53 and PIK3CA mutations,

研究分野：頭頸部外科学

キーワード：FAK 下咽頭癌 TP53変異

1. 研究開始当初の背景

以前申請者は局所進行下咽頭癌に対する手術療法症例の治療成績を検討し、疾患特異的五年生存率が53%と報告した(*Int J Clin Oncol* 2015)。再発例の多くは手術野外からの再発であり、更なる治療成績の向上の為に、手術適応基準の見直しと同時に、術後補助療法による術後再発ハイリスク群の制御率改善が重要である。TNM分類や従来の病理組織診断学に基づいた治療体系をより洗練させるためには、ゲノム異常を初めとする発癌メカニズムの解明によって治療標的分子あるいはバイオマーカーを同定し、治療方針の決定因子および治療標的のものに結びつける戦略が必要である。

Focal Adhesion Kinase (FAK) はインテグリン結合タンパクとして知られる非受容体型チロシンキナーゼであり、多くの癌細胞で高発現あるいは活性化され、TP53変異の誘導、PI3K/Akt経路の活性化、上皮間葉移行などを通じて癌細胞の増殖、浸潤、転移に関与している。その高発現は様々な癌腫(乳腺、肺、食道、胃、肝、大腸)で予後不良あるいは再発の予測因子と報告されている。TAE226、PF562、PND1186、VS-6063などFAKを標的としたATP拮抗阻害剤が開発され、臨床応用への研究段階である。将来これらの阻害剤が臨床に導入され、FAK経路そのものが有望な治療標的となることが期待されている。

下咽頭癌と患者背景が酷似する食道扁平上皮癌において、FAK発現状況が予後に影響しうるとの報告がなされた(*Br J Cancer* 2003)ことから、下咽頭癌におけるFAK発現状況が予後に影響しう、ひいては新規バイオマーカー並びに治療標的になりえないかと考えた。本研究により手術症例に於けるFAK発現状況と予後との相関性が明らかになれば、術後補助療法の適応判断に有用なバイオマーカーとなると考えられ、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

下咽頭扁平上皮癌におけるFAKの発現状況が再発・転移の予測因子となるか明らかにし、治療方針決定のバイオマーカーおよび術後補助療法の標的分子としての生物学的基盤を確立する。

3. 研究の方法

2004年～2014年に東京大学医学部附属病院耳鼻咽喉科で初回に手術療法を施行した下咽頭癌新鮮例107例の手術材料を用いてFAKの免疫染色を行い、腫瘍のFAK発現状

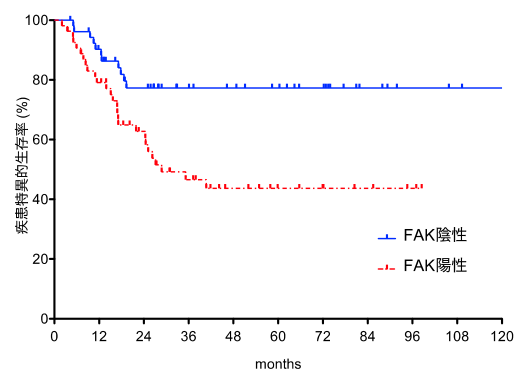
態と予後、ならびに臨床病理学的背景因子との関係を検討した。また、腫瘍組織及び正常粘膜のWestern blotを行い、FAKの免疫染色による評価との整合性を確認した。

次に2008年～2014年の57例を対象にp16免疫染色及びHPV in situ hybridizationを用い、下咽頭癌発症におけるHPVの関与について、Sanger法によるALDH2多型検索とALDH2多型と飲酒量の関係性について、

Sanger法によるTP53変異検索とその頻度及びALDH2多型、p53タンパク発現、予後との関連、FAK発現との相関性について、Sanger法によるPIK3CA変異検索ならびに定量的real-time PCRによるPIK3CA増幅とその頻度、予後との関連、及びFAK発現の相関性を検討した。

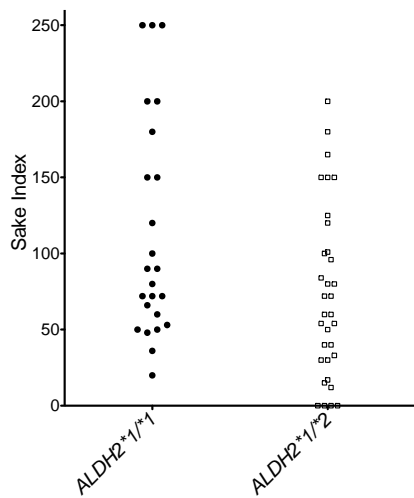
4. 研究成果

FAK免疫染色の結果、FAK陽性例では陰性例と比較して有意に病理学的リンパ節個数が多く($P=0.046$)、予後不良($P=0.003$, 下図)で、高率に遠隔転移が出現していた($P=0.004$)。次にFAK発現の有無、既存の術後予後不良因子とされる切除断端と節外浸潤の有無、及び病理学的T分類について多変量解析を行い、FAK陽性($P=0.01$; ハザード比=2.55; 95%信頼区間=1.24-5.23)及び節外浸潤($P=0.004$; ハザード比=2.80; 95%信頼区間=1.40-5.62)が独立した予後不良因子であることがわかった。



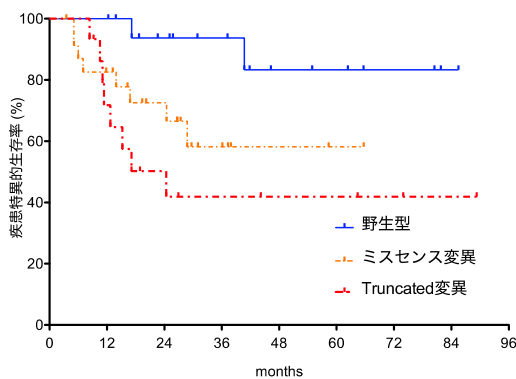
次に2008年以降の57例についてp16免疫染色は3例で陽性と判定された。しかしp16陽性3例全てでISH-HPV陰性と判定された。従って、全例がHPV非関連癌と判断された。

ALDH2多型を検索したところ、ALDH2^{*1}/^{*1}症例は24例(42%)、ALDH2^{*1}/^{*2}症例は33例(58%)であった。飲酒量をSake-Indexに換算しALDH2多型毎の飲酒量について比較検討を行ったところ、ALDH2^{*1}/^{*2}症例は有意に少ない飲酒量で下咽頭癌を発症していた。 $(P=0.02$, 次頁図)



TP53 遺伝子の変異を検索したところ、TP53変異様式の頻度は、野生型18例(32%)、ミスセンス変異

24例(42%)、ナンセンス変異9例(16%)、スプライシング異常4例(7%)、フレームシフト変異2例(3%)であり、39例(68%)で変異をきたしていた。また、TP53変異とp53タンパク発現の関連性について検討すると、野生型症例ではp53陰性/陽性=13/5例、ミスセンス変異症例ではp53陰性/陽性=7/17例、Truncated変異症例ではp53陰性/陽性=15/0例であり、有意差を認めた($P=0.0001$)。次にTP53変異と予後について検討を行った。3年疾患特異的生存率はそれぞれ野生型/ミスセンス変異/Truncated変異症例が94%/58%/42%であった。(下図)



TP53変異症例は野生型TP53症例と比較し、有意に予後不良($P=0.01$)、かつTruncated変異症例は野生型 + ミスセンス変異症例と比較し、有意に予後不良($P=0.03$)であった。FAK発現とTP53変異の相関性は認めなかったが、多変量解析にてTP53変異($P=0.03$; ハザード比=4.89; 95%信頼区間=1.12-21.3)とFAK陽性($P=0.04$; ハザード比=3.02; 95%信頼区間=1.07-8.49)は独立した予後不良因子であることがわかった。

PIK3CA遺伝子の変異検索を行い、9例(16%)で変異を認めた。また、定量的real-time PCRの結果、19例(33%)を増幅症例と判定した。PIK3CA変異・増幅には予後との関連は見られなかった。また、FAK発現とPIK3CA変異・

増幅の間にも相関性を認めなかった。

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 4件)

1. Association of the upregulated expression of focal adhesion kinase with poor prognosis and tumor dissemination in hypopharyngeal cancer. Omura G, Ando M, Saito Y, Kobayashi K, Yoshida M, Ebihara Y, Kanaya K, Fujimoto C, Sakamoto T, Kondo K, Asakage T, Yamasoba T. *Head Neck*. 2016; 38(8) 1164-1169.

2. Survival impact of local extension sites in surgically treated patients with temporal bone squamous cell carcinoma. Omura G, Ando M, Saito Y, Fukuoka O, Akashi K, Yoshida M, Kakigi A, Asakage T, Yamasoba T. *Int J Clin Oncol*. 2017; 22: 431-437.

3. Prognostic value of vascular and lymphatic invasion of primary tumor in hypopharyngeal carcinoma after total laryngopharyngectomy. Saito Y, Omura G, Yasuhara K, Rikitake R, Akashi K, Fukuoka O, Yoshida M, Ando M, Asakage T, Yamasoba T. *Head Neck*. 2017; 39: 1535-1543.

4. The prognostic value of TP53 mutations in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. Omura G, Ando M, Ebihara Y, Saito Y, Kobayashi K, Fukuoka O, Akashi K, Yoshida M, Asakage T, Yamasoba T. *BMC Cancer* 2017; 17: 898

[学会発表](計 6件)

1. 甲状腺半切を併施した喉頭全摘・咽喉食摘術症例の術後甲状腺機能について 2015 日本頭頸部外科学会総会

2. Comorbidities Predict Poor Prognosis for Advanced Head and Neck Cancer Patients Treated with Major Surgery 2015 アジア頭頸部癌学会

3. 当院に於ける外耳道扁平上皮癌の手術治療成績 2016 日本頭頸部外科学会総会

4. 下咽頭癌手術例における TP53 変異の臨床病理学的検討 2016 日本頭頸部癌学会総会

5. 下咽頭癌手術例における PIK3CA 活性型異常の臨床病理学的検討 2017 日本頭

頸部外科学会総会

6. 下咽頭癌症例における *ALDH2* 多型と飲
酒量および予後についての検討 2017
日本頭頸部癌学会総会

〔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〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

小村 豪 (OMURA, Go)

東京大学・医学部附属病院・登録研究員

研究者番号：00601139

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし

(4)研究協力者

安藤 瑞生 (ANDO, Mizuo)

東京大学・医学部附属病院・講師

吉田 昌史 (YOSHIDA, Masafumi)

東京大学・医学部附属病院・講師

齊藤 祐毅 (SAITO, Yuki)

東京大学・医学部附属病院・助教

朝蔭 孝宏 (ASAKAGE, Takahiro)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・教授