

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11718

研究課題名(和文) 口腔癌頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤特異的遺伝子変異の探索

研究課題名(英文) Investigation of extracapsular spread specific gene mutation of the cervical lymph node metastasis in oral cancer

研究代表者

道川 千絵子 (Michikawa, Chieko)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：00622648

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)： 頸部リンパ節転移巣において被膜外浸潤を呈する口腔癌原発巣腫瘍は、被膜外浸潤陰性ないし頸部リンパ節転移陰性群と比較してTP53の遺伝子変異が高頻度に見られること、原発巣と被膜外浸潤部のTP53遺伝子変異状況は、高い確率で一致していることが分かった。また、術後補助療法に対する第2相臨床試験登録患者群の切除検体を使用し、TP53遺伝子変異を検索したところ、TP53遺伝子状況が治療後の経過予測因子になりうる可能性を見出した。解析群は、病理組織学的に高リスク因子を少なくとも一つ呈するヒトパピローマウイルス陰性の進行頭頸部癌患者であり、被膜外浸潤は病理組織学的な高リスク因子の1つであった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌において、被膜外浸潤を呈する患者を含む病理組織学的高リスク患者群に対する術後補助療法として、世界標準治療が定められているが、特に、副作用、および、遠隔転移の減少を目指し、さらなる改善が必要であり、臨床試験が施行されている。これに伴い、治療法の選択を補助するバイオマーカーの探索は重要であると考え、我々は頭頸部癌において最も頻度の高い変異であるTP53遺伝子変異と被膜外浸潤、そして、臨床試験登録患者群の経過との関連性に注目して解析した。

研究成果の概要(英文)： We observed that mutation of the TP53 gene was the most common event in oral squamous cell carcinomas with extracapsular spread (ECS) of lymph node metastasis. The frequency of TP53 mutation in ECS-positive tumors was higher compared with ECS-negative tumors and wild-type TP53 was highly represented in pN0 tumors. ECS-positive patients had the highest proportion of high-risk TP53 mutations. There were no significant difference in allele frequency between primary tumors and lymph node metastasis with ECS.

Using resected specimens from enrolled patients on randomized phase II clinical trial which assessed new adjuvant therapy, we found TP53 status to be predictive of outcome to cisplatin- and docetaxel-based combination bio-chemoradiotherapy in patients with pathologically high-risk human papillomavirus-negative head and neck squamous cell carcinoma. Pathologically high-risk factors included positive margin and/or ECS-positive and/or two or more positive nodes.

研究分野：医歯薬学

キーワード：被膜外浸潤 扁平上皮癌 TP53 次世代シーケンス 頭頸部癌 臨床試験 口腔癌 NRG

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌患者において、頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤の存在は、最も重要な予後不良因子であるため、我々の研究グループを含め、様々な研究者が被膜外浸潤特異的な分子生物学的特徴を研究してきたが、いまだ、明らかなコンセンサスが得られたバイオマーカーは存在しない。頭頸部癌において、もっとも頻度の高い TP53 の変異は経過不良と関連していることが報告されてきたが、TP53 と被膜外浸潤の関連性は解明されておらず、また、TP53 遺伝子検索結果自体、臨床現場で使用されるに至っていない。我々は、近年、コンピューターによる新規スコアリングシステム (EAp53 スコアリングシステム) を用いて、TP53 ミスセンス変異を高リスクと低リスクグループとに分類した。これは、癌の分子的機序の解明を目指す包括的プロジェクトである癌ゲノム・アトラス (The Cancer Genome Atlas: TCGA) に登録された頭頸部癌患者コホートを用いて、低リスクグループは野生型の TP53 をもつグループと同様の経過を示す一方、高リスクグループは不良な経過をたどることが示された。この結果は、当病院の患者コホートを用いた解析によって評価され、EAp53 は信頼性のある分類であることが確認された。

また、被膜外浸潤は、術後療法を決定するための世界標準マーカーであり、被膜外浸潤陽性患者には、外科手術後に高用量シスプラチン単剤を用いた化学放射線同時併用療法の施行が推奨される。しかし、重篤な副作用の軽減、および、さらなる生存率改善が必要であり、用量の調整、および、他剤、ないし、分子標的薬との併用療法などの模索が続いている。その1つに、2004 年以降、NRG Oncology グループにより行われた第 2 相試験 RTOG 0234 があり、ここでは、低用量シスプラチンおよび分子標的治療薬であるセツキシマブに放射線を組み合わせた群と、低用量ドセタキセルおよびセツキシマブに放射線を組み合わせた群の比較を行い、両群ともに従来の高用量シスプラチン単剤併用放射線療法よりも生存率の改善および、副作用の減少が認められ、特に、ドセタキセルを用いた群は、遠隔転移の減少による明らかな生存率の改善が得られたことが既に報告されている (J Clinical Oncol. 2014)。

2. 研究の目的

- (1) 被膜外浸潤特異的な遺伝子変異、RNA 発現状況、コピー数異常を探索することを第一の目的とした。
- (2) 第 2 相臨床試験 RTOG 0234 の検体を使用し、臨床試験登録患者において、EAp53 が予後因子、あるいは、治療経過予測因子になりうるのかを第二の目的とした。
- (3) 上記の結果を検証することを第三の目的とした。

3. 研究の方法

(1) TCGA に登録されている患者群の中から、ヒトパピローマウイルス陰性の口腔扁平上皮癌 230 症例の臨床病理組織学的データ、遺伝子変異・遺伝子発現状況 (RNA)、遺伝子・染色体部位コピー数異常データを抽出し、被膜外浸潤と特異的な分子マーカーの探索的解析を行った。

同時に、自施設内の被膜外浸潤を生じた口腔扁平上皮癌 17 症例に対して、原発巣新鮮凍結検体、同一症例の被膜外浸潤陽性頸部リンパ節転移巣のホルマリン固定パラフィン包埋切片、および血液 (コントロール) からゲノム DNA を抽出、TP53 を含む、頭頸部癌にて高頻度に変異が認められる 17 の遺伝子に対してターゲットシーケンス解析を行った。

(2) RTOG 0234 に登録された患者群のうち、最終的に解析可能であった 151 症例の癌切除検体に対し、ゲノム DNA を抽出、CLIA 認定されている次世代シーケンサーを用いて、非臨床ラボにて TP53 遺伝子変異の解析を行った。DNA 量が微量であった 9 検体、および、品質に問題のあった 1 症例を除き、141 症例の解析に成功し、EAp53 による分類を行った。また、解析に成功した 141 症例の解析のうち、HPV 陰性の患者群 81 症例に対して EAp53 が予後因子、あるいは、治療経過予測因子になりうるのか解析を行った。

(3) 上記の結果を検証するために、口腔癌症例の臨床病理学的情報を収集し、術前治療なしに外科手術を施行し、術後補助療法としてシスプラチン併用放射線療法を施行した、症例を抽出し、原発巣のホルマリン固定パラフィン包埋切片からゲノム DNA を抽出、同様のシーケンサーを用いて、TP53 遺伝子変異の解析を行った。

4. 研究成果

(1) TCGA に登録されたヒトパピローマウイルス陰性の口腔癌 230 症例の解析から、転移リンパ節に被膜外浸潤を呈する原発巣腫瘍は、被膜外浸潤陰性および転移なしの原発巣腫瘍に比べて TP53 遺伝子変異の頻度が高いことを確認した。特に高リスク TP53 変異が被膜外浸潤を生じる原発巣において高頻度に見られることが分かった。転移なしの原発巣腫瘍では TP53 野生型が多く認められた。

一方、自施設内の 17 症例の原発巣・リンパ節に対する解析から、TP53 変異は原発巣に 10 症例、リンパ節に 10 症例認められた。変異タイプの内訳は、高リスク TP53 変異が 5 症例、ミスセンス以外の変異が 4 症例、低リスク変異が 1 症例であり、内訳は、原発巣・リンパ節転移巣ともに共通していた。また、8 症例において、変異タイプは原発巣・リンパ節転移巣両者に共通していた。5 症例は、原発巣・リンパ節転移巣両者ともに TP53 野生型であった。したがって、17 症例中 13 症例 (76.5%) は、TP53 遺伝子状況が一致していることを確認した。

(2) ドセタキセル使用群において、EAp53 高リスクグループおよびミスセンス以外の TP53 遺伝子変異をもつグループは、TP53 野生型および EAp53 低リスクグループと比べ、不良な経過を示した。また、TP53 野生型および EAp53 低リスクグループは、シスプラチン使用群に比べ、ドセタキセル使用群の方が、良好な経過を示すことが分かったが、EAp53 高リスクグループおよびミスセンス以外の TP53 遺伝子変異をもつグループ間には、治療内容の違いによる有意な差は見られなかった。結果は、The American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2019 Annual Meeting の Clinical Science Symposium、および、NRG Oncology July 2019 Semiannual Meeting にて発表、現在、論文の完成を目指している。しかし、最終的なコホートが小さいため、結果はさらなる検証が必要である。

(3) TP53 遺伝子変異の解析結果を用いて、EAp53 スコアリングを行い、治療経過との関連性を解析した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sandulache Vlad C., Michikawa Chieko, Kataria Pranav, Gleber-Netto Frederico O., Bell Diana, Trivedi Sanchit, Rao Xiayu, Wang Jing, Zhao Mei, Jasser Samar, Myers Jeffrey N., Pickering Curtis R.	4. 巻 24
2. 論文標題 High-RiskTP53Mutations Are Associated with Extranodal Extension in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 1727 ~ 1733
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/1078-0432.CCR-17-0721	査読の有無 有
オープンアクセス 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 該当する

1. 著者名 Michikawa C., Izumo T., Sumino J., Morita T., Ohyama Y., Michi Y., Uzawa N.	4. 巻 17
2. 論文標題 Small size of metastatic lymph nodes with extracapsular spread greatly impacts treatment outcomes in oral squamous cell carcinoma patients	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 31724-1
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijom.2017.12.007	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Michikawa, Chieko; Torres-Saavedra, PA; Silver, NL; Harari, PM; Kies, MS; Rosenthal, DI; Le, Quynh-Thu; Jordan, RC; Duose, DY; Mallampati, S; Trivedi, S; Luthra, R; Wistuba, II; Lichtarge, O; Foote, RL; Parvathaneni, U; Hayes, DN; Pickering, CR; Myers, JN
2. 発表標題 Evolutionary action score of TP53 analysis in pathologically high-risk HPV-negative head and neck cancer from a phase II clinical trial: NRG Oncology RT0G 0234
3. 学会等名 2019 ASCO (The American Society of Clinical Oncology) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Michikawa, Chieko; Torres-Saavedra, PA; Silver, NL; Harari, PM; Kies, MS; Rosenthal, DI; Le, Quynh-Thu; Jordan, RC; Duose, DY; Mallampati, S; Trivedi, S; Luthra, R; Wistuba, II; Lichtarge, O; Foote, RL; Parvathaneni, U; Hayes, DN; Pickering, CR; Myers, JN
2. 発表標題 Evolutionary action score of TP53 analysis in pathologically high-risk HPV-negative head and neck cancer from a phase II clinical trial: NRG Oncology RT0G 0234
3. 学会等名 NRG Oncology July 2019 Semiannual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	鵜澤 成一 (Uzawa Narikazu) (30345285)	東京医科歯科大学・歯学部附属病院・講師 (12602)	