

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16910

研究課題名（和文）耳下腺癌の高頻度・顔面神経浸潤機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of facial nerve invasion mechanism of parotid gland cancer

研究代表者

綾仁 悠介（Ayani, Yusuke）

大阪医科大学・医学部・助教

研究者番号：80816380

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトPGCにおいてTRKB発現は、中悪性のAdCCと比較して、高悪性であるSDCで有意に高かった。また、TRKBが高発現であることは、PGC（AdCCおよびSDC）患者の神経浸潤とは関連していなかったが、血管浸潤、リンパ節転移、および予後不良であることと有意に相関していた。最後に、PGC細胞のBDNF誘発性の細胞遊走能は、TRKB特異的阻害剤と汎TRK阻害剤であるラトロレクチニブによって抑制された。これらの結果から、SDCの浸潤性においてBDNF-TRKBシグナルが重要であり、TRKBがPGC患者の治療標的となる可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

耳下腺癌は希少癌であるため、有効な治療薬が確立されておらず、新たな治療薬の開発が望まれている。本研究では神経浸潤にまつわる分子としてTRKBに注目し、TRKBが耳下腺癌の予後に関連することを見出した。将来的にTRKBをターゲットとした分子標的薬が耳下腺癌の治療薬として臨床応用されれば、社会的にも意義深いと考える。

研究成果の概要（英文）：First, we showed abnormal upregulation of TRKB in human PGC. The expression was significantly high in an aggressive malignancy, SDC, comparing with a slow-growing and relentless malignancy, AdCC. Second, although high expression of TRKB was not associated with neuroinvasion in the patients with PGC (SDC and AdCC), it was significantly correlated with tumor subtype, vascular invasion, nodal metastasis, and poor prognosis. Last, BDNF-induced cell migration of PGC cells was attenuated by a TRKB specific inhibitor and an anticancer drug, larotrectinib (pan-TRK inhibitor). These findings describe the importance of the BDNF-TRKB axis in the aggressiveness of SDC and support that TRKB signaling is a therapeutic target in patients with PGC.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：耳下腺癌 TRKB

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

耳下腺癌は発生頻度が非常に低い癌であり、全癌からみると0.5%で、頭頸部癌のなかでも1~3%を占めるにすぎない。さらに悪性度の異なる23種類もの多くの組織型が存在する。その希少さと多様な組織型ゆえに、臨床研究が十分に進んでおらず、また、有用な耳下腺癌細胞株の樹立報告もほとんど知られていないため、基礎研究も十分に進んでいない。そのため、効果的な新しい治療の開発が急務となっている。

癌の転移にはリンパ行性転移、血行性転移、播種が知られているが、最近の研究では神経浸潤が第4の転移経路として報告されている。耳下腺癌の一番の特徴は、高率に神経浸潤を来することであり、耳下腺内を走行する顔面神経への腫瘍浸潤による顔面運動の障害(顔面神経麻痺)が、重要な症状となっている。顔面神経麻痺は、整容面でのQOLを大きく下げ、予後不良の指標となることがこれまでの報告からわかっており、UICC(Union International Control Cancer)に基づく耳下腺癌のTNM分類では、顔面神経浸潤があるだけでT4aに分類されている。耳下腺癌の組織型別での神経浸潤の頻度の違いや、神経浸潤の分子機構に注目した研究はほとんど行われていない。今回、耳下腺癌における神経浸潤と顔面神経麻痺ならびに予後における関係に着目し、研究を開始した。

### 2. 研究の目的

神経浸潤と顔面神経麻痺を来しやすい組織型の耳下腺癌に注目して、耳下腺癌の神経浸潤機構を解析する。耳下腺癌の新規分子診断および治療への応用を見据えて、耳下腺癌の顔面神経への浸潤機構の一端を解明し、神経浸潤を標的とした新規臨床診断と治療の開発の礎を築くことを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒト耳下腺癌病理組織解析

ヒト耳下腺癌組織サンプルを用いて、BDNF/TRKBをはじめ、神経浸潤関連分子の免疫組織染色を、自動染色装置を用いてすべて同一条件で行うことで解析する。当科で治療した耳下腺癌89症例において神経浸潤を認めたのは27%で、そのうち顔面神経麻痺を認めたものは20%であった。その中で顔面神経浸潤の割合が高かった癌種である、腺様嚢胞癌(AdCC)、唾液腺導管癌(de novo SDC)、多形線腫由来唾液腺導管癌(CXPA-SDC)を対象とした。これらを神経浸潤に関係があると予想される分子であるNCAM/TRKA/TRKB/TRKCの免疫染色にて解析した。染色像を用いて病理組織解析を行うことで、これら関連分子と臨床パラメータ(神経浸潤、顔面神経麻痺、血管浸潤、リンパ管浸潤、生存率など)の関連性の有無を検証・解析した。

#### (2) ヒト耳下腺癌細胞株の樹立と、その細胞の浸潤機構の解明

神経浸潤能が異なる代表的組織型のヒト耳下腺癌から、神経浸潤の有無を区別して耳下腺癌細胞株の樹立を行った。PDXマウスモデルを用い、組織型が扁平上皮癌であるヒト耳下腺癌細胞株(C07T1)を樹立した。そのC07T1を用いて、in vitro解析を行う。細胞形態や神経浸潤関連分子の発現レベル、または低分子化合物での機能阻害による細胞遊走能への効果を検証した。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒト耳下腺癌病理組織解析

AdCCはTRKBの発現が低く、それに対してde novo SDC、CXPA-SDCにおいてTRKBの発現は高かった(図A)。次にこれらの癌種とTRKB、神経浸潤、顔面神経麻痺、血管浸潤、リンパ管浸潤を比較検討した。すると、AdCCと比較してSDC(de novo + CXPA)では有意にTRKBの発現が高く、リンパ管浸潤の割合が高かった。また、AdCCやCXPA-SDCと比較してde novo SDCでは有意に血管浸潤およびリンパ管浸潤、顔面神経麻痺の割合が高かった。TRKBの高発現は耳下腺癌のリンパ管浸潤と高い相関があることがわかった。生存期間の解析では5年粗生存率、5年無再発

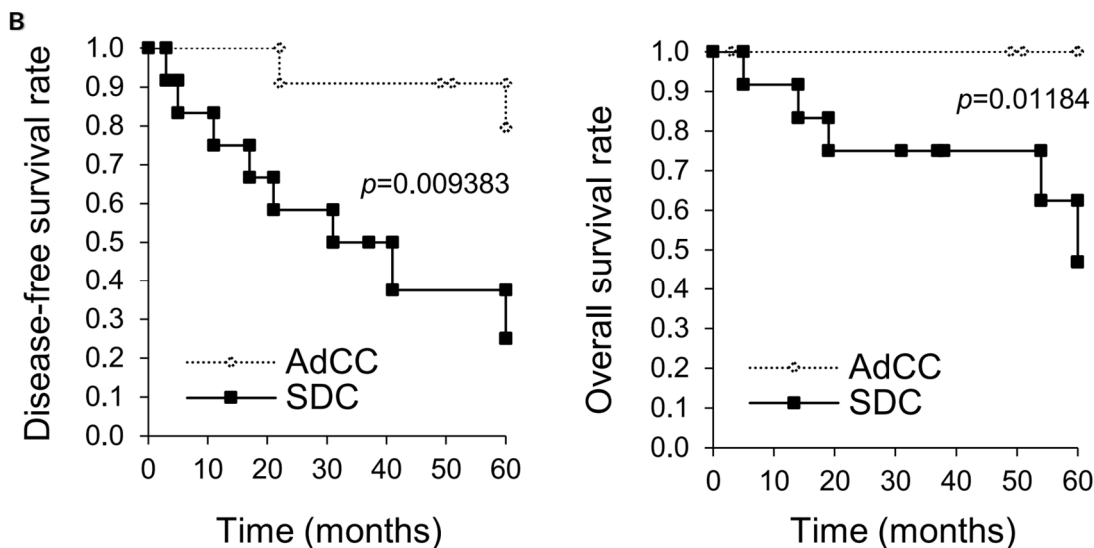
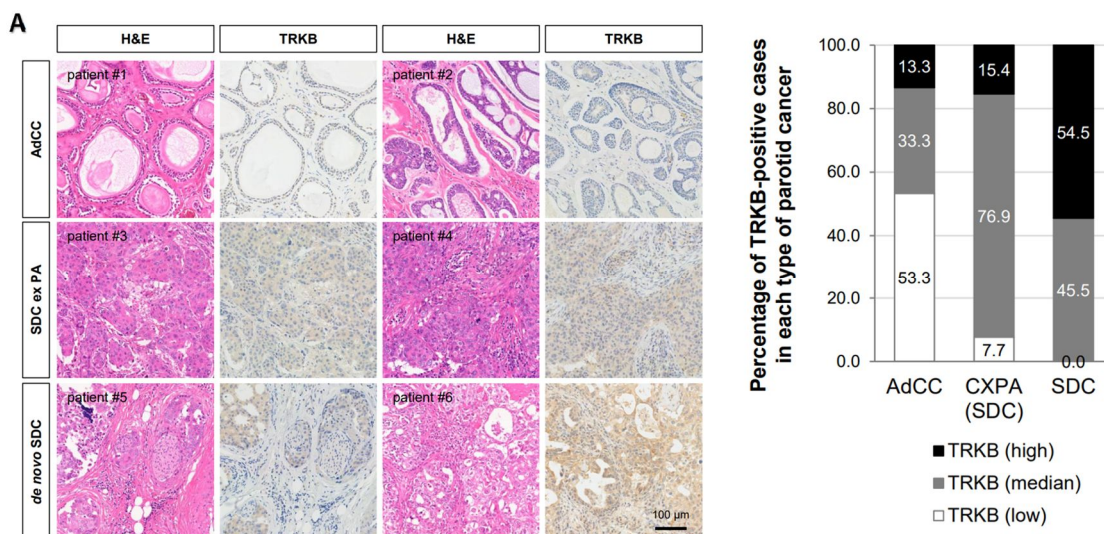
生存率ともに、TRKB の発現が高値である SDC (de novo + CXPA) において優位に予後が不良であった (図 B)。

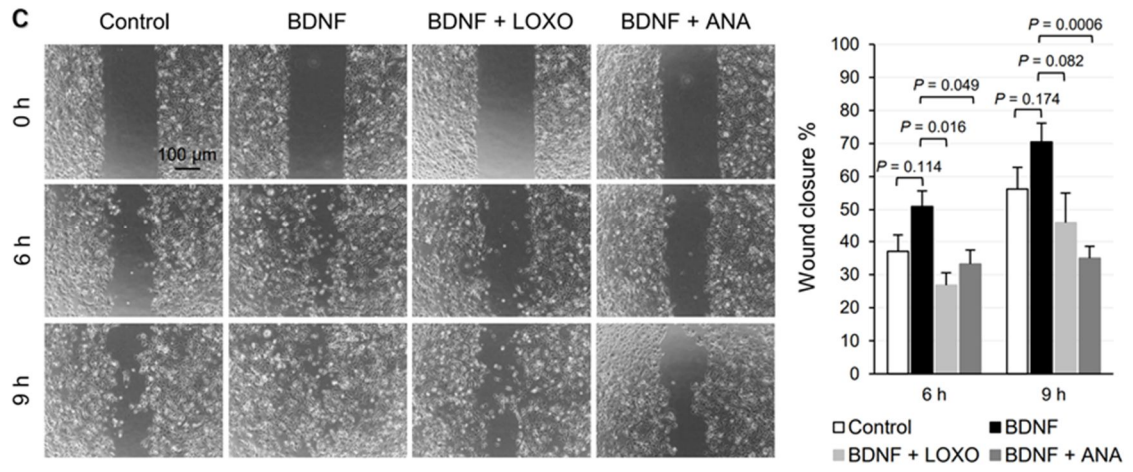
(2) ヒト耳下腺癌細胞株の樹立と、その細胞の浸潤機構の解明

PDX マウスモデルを用い、扁平上皮癌のヒト耳下腺癌細胞株 (C07T1) を樹立した。その他の組織型の細胞株の樹立は今回の研究期間内には困難であった。TRK 阻害剤による C07T1 の BDNF 誘発細胞遊走能の抑制についてを Wound healing assay にて検証した。TRKB のリガンドである BDNF で誘発された細胞遊走能が、TRK 阻害剤である LOXO-101 または TRKB 阻害剤である ANA-12 を付加した際に有意に抑制された (図 C)。

<まとめ>

今回の研究からは、耳下腺癌、特に SDC の高い浸潤能と転移能に TRKB が寄与している可能性があると考えられた。しかし、それは TRKB 単独で規定するものではなく、その他の因子も関係も示唆された。TRKB は耳下腺癌の新たな腫瘍マーカーとしての位置づけや、化学療法における分子標的薬の一つとなる可能性もあり得る。





5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yusuke Ayani, Shin-Ichi Haginomori, Ryo Kawata
2. 発表標題 TRKB Tyrosine Kinase Receptor Is a Therapeutic Target for Head and Neck Cancer
3. 学会等名 AAO-HNSF 2019 Annual Meeting & OTO Experience (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yusuke Ayani, Kazumasa Moriwaki, Hiroko Kuwabara, Tetsuya Terada, Ryo Kawata, and Michio Asahi
2. 発表標題 Therapeutic potential of targeting BDNF/TRKB signaling in poorly differentiated oral squamous cell carcinomas
3. 学会等名 第77回日本癌学会
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------