

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：22701
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2019～2022
課題番号：19K09895
研究課題名(和文) スーパーエンハンサーを介した遺伝子発現制御によるHPV関連中咽頭癌発癌機構の解明

研究課題名(英文) HPV-associated oropharyngeal carcinogenesis by super-enhancer-mediated gene regulation.

研究代表者
佐野 大佑 (SANO, Daisuke)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：10620990
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：HPV関連中咽頭癌進展と癌周囲の微小環境との関係を解析するため、生体内組織に近い環境を反映するオルガノイド培養法を用いることとした。同培養法の技術確立のため、唾液腺癌患者の切除検体を用いたオルガノイド株樹立と、また同時に腫瘍内の不均一性が保たれるPDXモデル樹立を試みた。その結果、唾液腺腺様嚢胞癌のPDXモデル/PDXO短期培養、唾液腺導管癌のPDXモデル/PDO/PDXO、粘表皮癌のPDXモデル/PDO/PDXO、筋上皮癌のPDXモデルの樹立に成功した。各モデルはオリジナルの組織学的特徴を再現しており、また転写プロファイル、遺伝子変異、融合遺伝子の存在など、遺伝的特徴も保持していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を介して頭頸部癌研究においても従来の二次元培養に比べてより生体内組織に近い環境を反映することが可能であり、癌周囲の微小環境が解析可能となる三次元培養法によりオルガノイド株樹立が可能であることを示した。

このような生体内組織に近い環境を反映可能なモデルが今後の頭頸部癌研究で使用可能となることは、頭頸部癌の発癌機序解明や、頭頸部癌の個別化治療開発に大きく貢献すると考える。

研究成果の概要(英文)：To analyse the relationship between the progression of HPV-related oropharyngeal carcinoma and the tumour microenvironment, an organoid culture method reflecting an environment similar to that of in vivo tissue was used. To establish this culture technique, we attempted to establish organoids using resected specimens from patients with salivary gland cancer and a PDX model. We succeeded in establishing a PDX model/PDXO short-term culture of salivary adenoid cystic carcinoma, a PDX model/PDO/PDXO of salivary duct carcinoma, a PDX model/PDO/PDXO of mucoepidermoid carcinoma and a PDX model of myoepithelial carcinoma. Each model reproduced the original histological features and retained genetic features such as transcriptional profiles, genetic mutations and the presence of fusion genes.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：HPV関連中咽頭癌 ヒトパピローマウイルス 中咽頭癌 スーパーエンハンサー オルガノイド PDXモデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

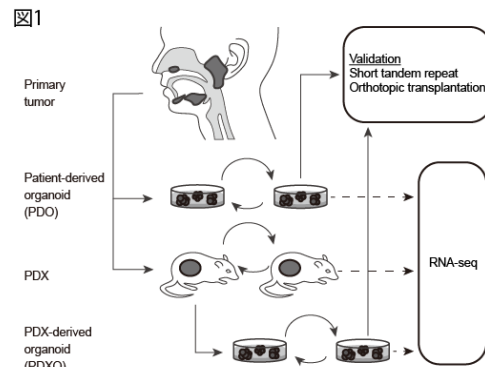
ヒトパピローマウイルス (human papillomavirus: HPV) 関連中咽頭癌は近年罹患数が増加し、頭頸部癌治療の大きな問題の一つとなっているが発癌機序は未だ解明されていない。本研究は申請者が今までの研究で明らかにした、HPV のヒトゲノムへの詳細な組み込み部位、組み込み機構の情報を元に、近年遺伝子発現制御に関わる巨大転写調節因子群としてその概念が提唱されているスーパーエンハンサーの役割を調べることで、HPV 関連中咽頭癌発癌、進展に関連する細胞側遺伝子の発現調節異常を網羅的に解析することを目的に研究を開始した。

2. 研究の目的

HPV 関連中咽頭癌の進展と癌周囲の微小環境との関係について解析するために、従来の二次元培養に比べてより生体内組織に近い環境を反映することが可能であり、癌周囲の微小環境が解析可能となる三次元培養法(オルガノイド培養法)を用いることとした。同培養法の技術を確認し、同培養法を用いた解析における結果の再現性を担保するために、唾液腺癌患者の切除検体を用いたオルガノイド株樹立を目的とした。また同時に唾液腺癌患者の切除検体を用いて腫瘍内の不均一性が保たれるとされる Patient-derived xenograft (PDX)モデル樹立についても目的とした。

3. 研究の方法

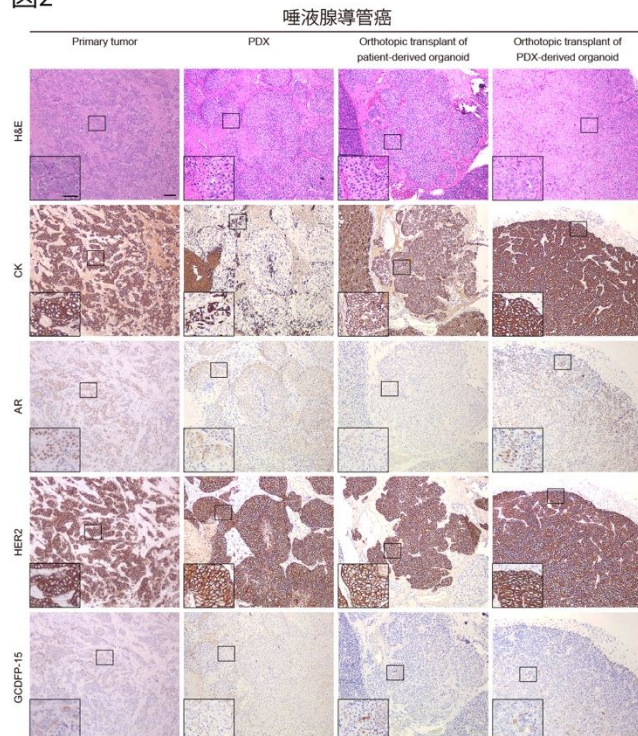
申請者が所属する施設における唾液腺癌手術で得られた手術検体を用いて PDX および患者由来オルガノイド (PDO) を作製した。また、樹立した唾液腺癌 PDX 検体から PDX-derived organoid (PDXO) を作製した。in vivo での腫瘍形成能は唾液腺癌 PDO あるいは PDXO の同所性移植により評価した。PDX は 2 回以上の継代が可能と確認されたものを樹立成功とした。PDO と PDXO についてはシストが形成され、5 回以上の継代が可能と確認され、かつ継続的な増殖が確認されたものを樹立成功とした。PDO と PDXO は NSG マウスの唾液腺へ同所性移植し、腫瘍形成能を確認した。作製した各モデルの組織学的特徴は免疫組織化学的分析によりオリジナル腫瘍のものと比較した。遺伝的特徴は RNA-seq により解析した(図1)



4. 研究成果

40 症例の唾液腺癌患者検体から上記モデル作製を試み、唾液腺腺様嚢胞癌による PDX モデル/PDXO 短期培養、唾液腺導管癌による PDX モデル/PDO/PDXO、粘表皮癌による PDX モデル/PDO/PDXO、筋上皮癌による PDX モデルの樹立に成功した。患者由来 PDX は 29 例中 6 例で樹立され、樹立率は 20.7% だった。PDO は 35 例中 4 例で樹立され、樹立率は 11.4% と PDX と比較して低い値であった。PDXO は 6 例中 3 例で樹立され、樹立率は 50.0% であった。各モデルはオリジナルの組織学的特徴を再現していることを確認した。図2は一例として唾液腺導管癌のオリジナルの腫瘍、PDX、PDO を同所性移植し作成した動物モデル上の腫瘍の組織学的特徴の比較を示す。Comedonecrosis を伴う篩状構造など、唾液腺導管癌の組織学的特徴をいずれのモデルでも確認できた。また唾液腺導管癌の一部に特徴的な Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)の発現をいずれのモデルでも認めた。

図2



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 SANO DAISUKE, TOKUHISA MOTOHIKO, TAKAHASHI HIDEAKI, HATANO TAKASHI, NISHIMURA GOSHI, ICHIKAWA YASUSHI, ORIDATE NOBUHIKO	4. 巻 42
2. 論文標題 Real-world Therapeutic Outcomes of the Pembrolizumab Regimen as First-line Therapy for Recurrent/Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: A Single-center Retrospective Cohort Study in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4477 ~ 4484
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.15948	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sano Daisuke, Shimizu Akira, Tateya Ichiro, Fujiwara Kazunori, Mori Terushige, Miyamoto Shunsuke, Nishikawa Daisuke, Terada Tomonori, Yasumatsu Ryuji, Ueda Tsutomu, Matsumoto Fumihiko, Kishimoto Yo, Maruo Takashi, Fujimoto Yasushi, Tsukahara Kiyooki, Yoshimoto Seiichi, Nibu Ken-ichi, Oridate Nobuhiko	4. 巻 48
2. 論文標題 Treatment outcomes of transoral robotic and non-robotic surgeries to treat oropharyngeal, hypopharyngeal, and supraglottic squamous cell carcinoma: A multi-center retrospective observational study in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 502 ~ 510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2021.01.024	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 -
1. 著者名 HYAKUSOKU HIROSHI, SAWAKUMA KAE, SANO DAISUKE, TAKAHASHI HIDEAKI, HATANO TAKASHI, SATO KANAME, ISONO YASUHIRO, SHIMADA SHOKO, TAKADA KENTARO, KUWAHARA TATSU, AIZAWA YOSHIHIRO, ORIDATE NOBUHIKO	4. 巻 41
2. 論文標題 FosL1 Regulates Regional Metastasis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma by Promoting Cell Migration, Invasion, and Proliferation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3317 ~ 3326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.15119	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 -

1. 著者名 Sano Daisuke, Shimizu Akira, Tateya Ichiro, Fujiwara Kazunori, Kishimoto Yo, Maruo Takashi, Fujimoto Yasushi, Mori Terushige, Kato Hisayuki, Tsukahara Kiyooki, Oridate Nobuhiko	4. 巻 11
2. 論文標題 Current Status of Transoral Surgery for Patients With Early-Stage Pharyngeal and Laryngeal Cancers in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 804933
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2021.804933	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takada Kentaro, Aizawa Yoshihiro, Sano Daisuke, Okuda Ryo, Sekine Keisuke, Ueno Yasuharu, Yamanaka Shoji, Aoyama Jun, Sato Kaname, Kuwahara Tatsu, Hatano Takashi, Takahashi Hideaki, Arai Yasuhiro, Nishimura Goshi, Taniguchi Hideki, Oridate Nobuhiko	4. 巻 148
2. 論文標題 Establishment of PDXderived salivary adenoid cystic carcinoma cell lines using organoid culture method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 193 ~ 202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.33315	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 -

1. 著者名 SANO DAISUKE, FUJISAWA TAKUO, TOKUHISA MOTOHIKO, SHIMIZU MINAKI, SAKAGAMI TOMOFUMI, HATANO TAKASHI, NISHIMURA GOSHI, ICHIKAWA YASUSHI, IWAI HIROSHI, ORIDATE NOBUHIKO	4. 巻 39
2. 論文標題 Real-world Treatment Outcomes of the EXTREME Regimen as First-line Therapy for Recurrent/Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: A Multi-center Retrospective Cohort Study in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 6819 ~ 6827
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.13898	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sano Daisuke, Tanabe Teruhiko, Kubota Akira, Miyamoto Shunsuke, Tanigaki Yuji, Okami Kenji, Komatsu Masanori, Ikoma Ryo, Suzuki Kazumasa, Akazawa Yoshihiro, Kobayashi Sei, Yamada Yoshihiro, Oridate Nobuhiko	4. 巻 99
2. 論文標題 Addition of S-1 to radiotherapy for treatment of T2N0 glottic cancer: Results of the multiple-center retrospective cohort study in Japan with a propensity score analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 104454 ~ 104454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2019.104454	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 -

1. 著者名 Isono Yasuhiro, Furuya Mitsuko, Kuwahara Tatsu, Sano Daisuke, Suzuki Kae, Jikuya Ryosuke, Mitome Taku, Otake Shinji, Kawahara Takashi, Ito Yusuke, Muraoka Kentaro, Nakaigawa Noboru, Kimura Yayoi, Baba Masaya, Nagahama Kiyotaka, Takahata Hiroyuki et al.	4. 巻 522
2. 論文標題 FLCN alteration drives metabolic reprogramming towards nucleotide synthesis and cyst formation in salivary gland	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 931 ~ 938
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.11.184	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 佐野大佑, 相澤圭洋, 青山準, 野島雄介, 高田顕太郎, 高橋秀聡, 折館伸彦
2. 発表標題 オルガノイド培養技術とPatient-derived xenograftモデルを用いた唾液腺癌モデル作製
3. 学会等名 第66回日本唾液腺学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐野大佑
2. 発表標題 唾液腺癌研究における患者由来モデルの有用性
3. 学会等名 日本患者由来がんモデル学会2022学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐野大佑, 折館伸彦
2. 発表標題 オルガノイド培養技術とPatient-derived xenograftモデルを用いた唾液腺癌に対する個別化治療開発
3. 学会等名 第46回日本頭頸部癌学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sano D
2. 発表標題 The mechanisms of oral cancer progression and metastasis
3. 学会等名 The 59th Annual meeting of Japanese Society of Clinical Oncology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Aizawa Y, Takada K, Sano D, Oridate N
2. 発表標題 dentification of hub genes associated with distant metastasis of salivary adenoid cystic carcinoma by co-expression network analysis
3. 学会等名 The 78th Annual meeting of the Japanese Cancer Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takada K, Aizawa Y, Sano D, Okuda R, Sekine K, Ueno Y, Aoyama J, Taniguchi H, Oridate N
2. 発表標題 Establishment of PDX-derived salivary gland adenoid cystic carcinoma cell lines using organoid culture method
3. 学会等名 The 78th Annual meeting of the Japanese Cancer Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐野大佑, 折館伸彦
2. 発表標題 頭頸部がんトランスレーショナルリサーチにおける動物モデル
3. 学会等名 第43回日本頭頸部癌学会 (招待講演)
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	波多野 孝 (HATANO Takashi) (40807583)	横浜市立大学・附属病院・助教 (22701)	
研究分担者	折館 伸彦 (ORIDATE Nobuhiko) (90312355)	横浜市立大学・医学研究科・教授 (22701)	

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
---------	---------