

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09923

研究課題名(和文) ゲノム・エピゲノム・トランスクリプトーム解析による頭頸部癌の腫瘍内不均一性の解明

研究課題名(英文) Intratumor heterogeneity in head and neck cancer by genomic, epigenomic, and transcriptomic analysis.

研究代表者

小林 謙也 (Kobayashi, Kenya)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80648311

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は予後不良頭頸部扁平上皮癌の時間的な腫瘍内不均一性を解明することを目的とした。標準治療367例から抽出した局所頸部再発症63例の初回腫瘍及び再発腫瘍126のペア検体の遺伝子変異ステータスを次世代シーケンサーにて解析した。再発した腫瘍のうち、22%でTP53に新たな変異が蓄積し、16%が元の変異を失っていた。TP53変異の蓄積は、口腔癌では咽頭癌や喉頭癌に比べて有意に高かった。再発後の2年生存率は、再発時のTP53ステータスと関連していたが、初期腫瘍のTP53ステータスとは関連していなかった。再発腫瘍のTP53ステータスは、多変量解析において独立した危険因子であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの網羅的ゲノム解析により、がんのサブクローン進化とそれに伴う腫瘍内不均一性が明らかになってきた。頭頸部癌においても、腫瘍内不均一性の報告はあるが、十分には解明されていない。本研究では、頭頸部扁平上皮癌の初回および再発ペア検体の詳細なゲノム解析を施行した。再発頭頸部癌の約3分の1は、初期腫瘍と異なる変異ステータスを持ち、変異の蓄積の程度は原発部位により異なることが明らかとなった。また、再発時の遺伝子変異プロファイルが、その後の予後に強く関与することも示された。今回の結果により、頭頸部扁平上皮癌でも遺伝子変異プロファイルは腫瘍増殖より変化し、悪性度に関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aims to evaluate whether the accumulation of TP53 mutations is associated with clinical outcome by comparing full-coverage TP53 deep sequencing of the initial and recurrent head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). Medical records and surgical specimens of 367 patients with HNSCC surgically treated with curative intent, of which 95 patients developed local or locoregional recurrence, were reviewed. Of these patients, 63 were eligible for genomic analysis. Full-coverage TP53 deep sequencing of 126 paired initial and recurrent tumor samples was examined using next-generation sequencing (NGS). Of the recurrent tumors, 22% harbored accumulation of TP53 mutations, and 16% lost the original mutation. Two-year post-recurrence survival (PRS) was associated with TP53 status for recurrent tumors, but not for initial tumors. The TP53 status for recurrent tumors was an independent risk factor in multivariate analysis.

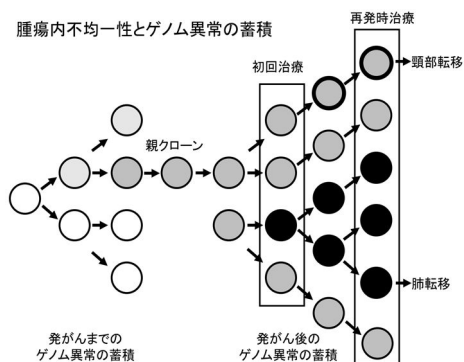
研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部癌 ゲノム解析

# 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

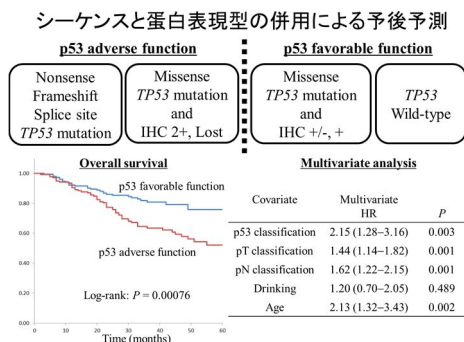
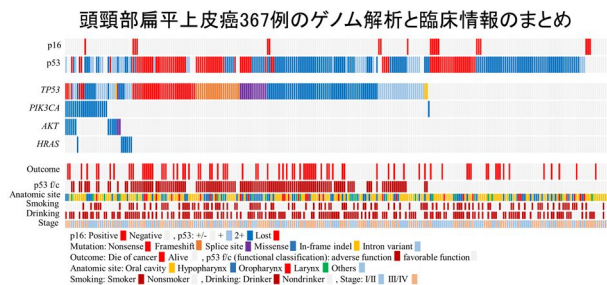
## 1. 研究開始当初の背景

がんの網羅的なゲノム解析により、がんのサブクローン進化とそれに伴う腫瘍内不均一性が明らかになってきた。ドライバー遺伝子の異常を有した親クローンと呼ばれる不動のがん細胞が出来上がるまでには様々なゲノム異常が蓄積される。親クローン発現後も、様々な選択圧を受けながら、遺伝子異常は蓄積され、多くのサブクローンが発生し腫瘍内不均一性につながる。そのサブクローンが微小環境に着床する遺伝子異常を持つことで、転移が生じると考えられている。がんクローンは常に進化する一方で、再発した際のクローンは治療前からマイナークローンとして存在していた可能性もある。近年、このようなサブクローン進化を加味した個別化治療が注目されている。頭頸部癌においても、腫瘍内不均一性が多いという報告があるが、十分には解明されていないのが現状である。



## 2. 研究の目的

先行研究にて外科治療を施行した 367 例のゲノム解析を行い、TP53 変異と p53 蛋白表現型異常を認められた症例群が生存予後不良で、高い局所再発率を認めることを明らかにした。さらに、同コホートの中で十分な治療を施行するも早期再発をきたした症例群を抽出した。本研究では、この症例群の初回治療時・再発時の臨床検体を用いてゲノム解析を行い、頭頸部扁平上皮癌の空間的・時間的不均一性を明らかにすることを目的とした。



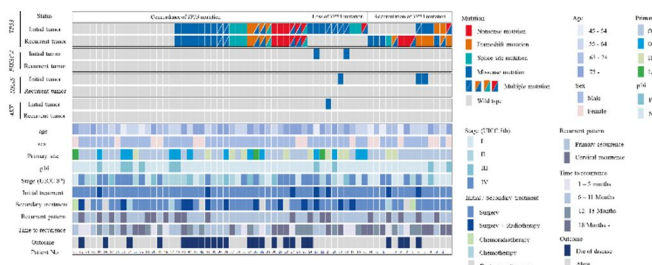
## 3. 研究の方法

頭頸部扁平上皮癌に対して外科的標準治療が施行された 367 例から抽出した局所再発症例 63 例の初回及び再発腫瘍 126 のペア検体の FFPE 標本より DNA を抽出し、TP53、PIK3CA、AKT、HRAS の変異ステータスを次世代シーケンサーにて時系列に解析した。TP53 に関しては、フルカバレッジでのディープシーケンスを施行した。変異ステータス、病理学的特徴、及び臨床転帰の時間的变化を比較、統計解析には Fisher の正確確立検定、Kaplan-Meier 法、Log-rank 検定、COX 回帰モデルを使用した。

## 4. 研究成果

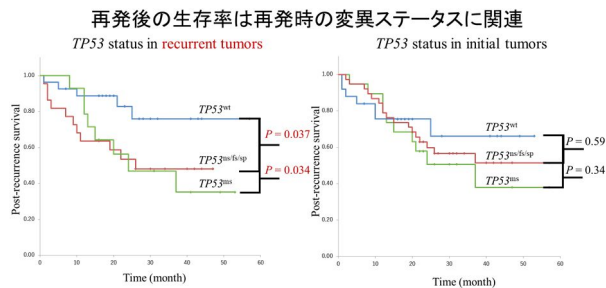
再発した腫瘍のうち、22%で TP53 に新たな変異が蓄積し、16%がもとの変異を失っていた。TP53 変異の蓄積は、口腔癌では咽頭癌や喉頭癌に比較して有意に高かった (33%vs7%, p=0.016)。PIK3CA、AKT、HRAS は全例で初回の変異を失っていた。

再発扁平上皮癌のゲノム解析と臨床情報のまとめ



再発後の 2 年生存率は、再発時の TP53 ステータスと関連していたが、初回腫瘍の TP53 ステータスとは相関していなかった。再発腫瘍の TP53 ステータスは、多変量解析において独立した危険因子であった (ハザード比、5.76; 95%CI、1.86-17.8; p=0.0023)。再発頭頸部扁平上皮癌の約 3 分の 1 は、初回腫瘍と異なる TP53 ステータスであった。変異の蓄積は原発巣によっていた。

再発腫瘍の TP53 ステータスを詳細に解析することで、再発後の予後予測に有用であった。



Covariate	Univariate model		Multivariate model	
	Hazard ratio (95% CI)	P-value	Hazard ratio (95% CI)	P-value
Sex (Male vs Female)	1.42 (0.53-3.80)	0.49	-	-
Age (>75y vs <=75y)	2.22 (0.99-4.98)	0.052	-	-
Smoking status (Smokers vs Nonsmokers)	1.67 (0.71-3.91)	0.24	-	-
Drinking status (Drinkers vs Nondrinkers)	1.51 (0.66-3.46)	0.33	-	-
Primary tumor site (Oral cavity vs Pharynx/Larynx)	1.08 (0.48-2.44)	0.83	-	-
p16 (Negative vs Positive)	5.49 (0.74-40.7)	0.096	-	-
pT classification (pT3/pT4 vs pT1/T2)	2.18 (0.98-4.88)	0.057	-	-
pN classification (pN2/N3 vs pN0/N1)	3.53 (1.57-7.93)	0.0023	3.53 (1.53-8.11)	0.0030
Surgical margin (Positive vs Negative)	1.64 (0.68-3.95)	0.28	-	-
Recurrence pattern (Cervical vs Primary)	1.49 (0.63-3.50)	0.36	-	-
Secondary treatment (Non-curative vs Curative)	5.82 (2.33-14.5)	0.00016	7.19 (2.46-21.0)	3.10E-04
Initial tumor TP53 (Mutant vs Wild type)	1.27 (0.53-3.08)	0.59	-	-
Recurrent tumor TP53 (Mutant vs Wild type)	3.05 (1.14-8.18)	0.027	5.76 (1.86-17.8)	0.0023
Time series change of TP53 (Concordant vs Different)	3.02 (1.12-8.16)	0.029	2.15 (0.78-5.96)	0.14

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kobayashi K, Yoshimoto S, Ando M, Matsumoto F, Murakami N, Omura G, Honma Y, Matsumoto Y, Ikeda A, Sakai A, Eguchi K, Ito A, Eigitsu R, Yatabe Y, Mori T.	4. 巻 113
2. 論文標題 Full-coverage TP53 deep sequencing of recurrent head and neck squamous cell carcinoma facilitates prognostic assessment after recurrence.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral oncology	6. 最初と最後の頁 105091
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.oraloncology.2020.105091.	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 Akiko I, Kobayashi K, Shiotsuka M, Sato T, Omura G, Matsumoto Y, Ikeda A, Sakai A, Eguchi K, Takano T, Matsumot F, Kobayashi O, Iwata S, Yoshimoto S.	4. 巻 51
2. 論文標題 Uniform infection screening allowed safe head and neck surgery during the coronavirus disease 2019 pandemic in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Jpn J Clin Oncol .	6. 最初と最後の頁 400-407
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jjco/hyaa195.	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 Kobayashi K, Mastumoto F, Miyakita Y, Arikawa M, Omura G, Matsumura S, Ikeda A, Sakai A, Eguchi K, Marita Y, Akazawa S, Miyamoto S, Yoshimoto S	4. 巻 5
2. 論文標題 Risk Factors for Delayed Surgical Recovery and Massive Bleeding in Skull Base Surgery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomed Hub .	6. 最初と最後の頁 87-100
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000507750. eCollection May-Aug 2020.	査読の有無 無
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 Kobayashi Kenya, Matsumoto Yoshihumi, Matsumoto Fumihiko, Sato Tetsufumi, Mori Taisuke, Tsuchida Takaaki, Omura Go, Matsumura Satoko, Ikeda Atsuo, Sakai Azusa, Eguchi Kotaro, Yoshimoto Seiichi	4. 巻 41
2. 論文標題 A surgical approach to schwannomas originating from the esophageal branch of the recurrent laryngeal nerve: Pictorial essay	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Head & Neck	6. 最初と最後の頁 4054 ~ 4059
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/hed.25921	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 Mori Taisuke, Kobayashi Kenya, Yoshimoto Seiichi	4. 巻 26
2. 論文標題 ASO Author Reflections: Precise p53 Analysis in Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Specimens Can Predict Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Outcomes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 614 ~ 615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07433-5	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 Kobayashi Kenya, Yoshimoto Seiichi, Matsumoto Fumihiko, Ando Mizuo, Murakami Naoya, Omura Go, Fukasawa Masahiko, Matsumoto Yoshifumi, Matsumura Satoko, Akamatsu Maki, Hiraoka Nobuyoshi, Eigitsu Ryo, Mori Taisuke	4. 巻 26
2. 論文標題 All-Exon TP53 Sequencing and Protein Phenotype Analysis Accurately Predict Clinical Outcome after Surgical Treatment of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 2294 ~ 2303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07287-x	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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小林 謙也、伊東 明子、江口 紘太郎、坂井 梓、池田 篤生、松村 聡子、小村 豪、吉本 世一
2. 発表標題 頭蓋底手術における嗅神経温存の工夫
3. 学会等名 頭頸部癌学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kobayashi K, Matsumoto F, Miyakita Y, Moti T, Omura G, Fukasawa M, Matsumoto Y, Matsumuta S, Akamatsu M, Yoshimoto S
2. 発表標題 Risk factors for delayed surgical recovery and massive bleeding in skull base surgery.
3. 学会等名 the 6th Asian society of head and neck oncology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林謙也、森泰介昌、安藤瑞生、坂井梓、池田篤生、赤松摩紀、松村聡子、小村豪、松本文彦、吉本世一
2. 発表標題 再発頭頸部扁平上皮癌におけるTP53変異の時系列解析
3. 学会等名 第43回頭頸部癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林謙也、江口紘太郎、坂井梓、池田篤生、松村聡子、小村豪、吉本世一
2. 発表標題 当院における小児悪性腫瘍の 治療経験
3. 学会等名 第30回頭頸部外科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 小林謙也	4. 発行年 2020年
2. 出版社 東京医学社	5. 総ページ数 1503-1508
3. 書名 JHONS 【治療がめずらしい】嗅神経芽細胞腫	

1. 著者名 小林謙也	4. 発行年 2020年
2. 出版社 日本臨牀社	5. 総ページ数 581-586
3. 書名 日本臨牀 肉腫－基礎・臨床の最新動向－軟部肉腫 頭頸部	

〔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	森 泰昌  (Mori Taisuke)  (00296708)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医員    (82606)	
研究分担者	吉本 世一  (Yosimoto Seiich)  (00462242)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・科長    (82606)	
研究分担者	安藤 瑞生  (Ando Mizuo)  (60511467)	岡山大学・医学部附属病院・教授    (15301)	変更：2020年12月1日 (60,000) 東京大学 (0) 岡山大学

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