

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07383

研究課題名(和文) 頭頸部がんのクロマチンアクセシビリティ解析による薬剤応答性新規細胞亜集団の特定

研究課題名(英文) Identification of novel drug-responsive cell subpopulations with chromatin accessibility analysis of head and neck cancer

研究代表者

森 泰昌 (MORI, TAISUKE)

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医師

研究者番号：00296708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部扁平上皮癌の不均一性やゲノム異常の蓄積、それに伴う治療抵抗性の理解を目的として多様性を規定するサブポピュレーションを腫瘍発生機序やHPVのタイプ、形態学的変化と合わせて解析を行った。17例の匿名化された詳細な臨床情報のデータベースの作成とそれら症例のDNAを抽出し、癌関連遺伝子のエクソーム解析を進めた。さらにmulti-regionエクソーム解析について50例以上解析を完了した。加えて再発症例について時間的な変化と転移リンパ節を含めた解析した。これから一つの腫瘍と考えられている中に少なくとも3つ以上のクローンが存在すること、薬剤ターゲットとなり得るドライバーを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌はアルコールやタバコの要因のみならず、Human Papilloma VirusやEpstein-Barr Virus感染、近年では血液腫瘍に対する骨髄移植後の移植片対宿主病変(Graft Versus Host Disease/GVHD)を起因とした多発、再発がんが問題となっている。これらの疾患の本質は、フィールドカンセライゼーションと呼称される領域全体のゲノム変異の蓄積である。ほん研究の成果はそれらの領域的なヘテロジェネティを理解すること、腫瘍の薬剤耐性のメカニズムを理解し、治療方針や予防、再発のリスク評価などの患者のフォローアップ方法のエビデンスを確立することにある。

研究成果の概要(英文)：To understand the heterogeneity of head and neck squamous cell carcinoma and the accumulation of genomic aberrations and associated treatment resistance, we analyzed the subpopulations that define diversity together with the mechanisms of tumorigenesis, HPV types, and morphological changes. DNA was extracted from 17 cases, and exome analysis of cancer-related genes was performed. In addition, more than 50 cases of multi-region exome analysis were completed. In addition, we have analyzed recurrent cases including temporal changes and metastatic lymph nodes. This has revealed the presence of at least three clones within a single tumor and potential drug target drivers.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：分子病理学、人体病理学

キーワード：頭頸部癌 ゲノム解析 再発・多発 ヘテロジェネティ 治療法開発

1. 研究開始当初の背景

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がん細胞形成には様々なゲノム異常が蓄積される。80%以上の頭頸部扁平上皮癌は、TP53の部分的、あるいは全機能喪失が最初のステップであり、TP53の変位パターンや時間の経過による影響を受けると考えられる。親クローンでは、その他の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。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、腫瘍内不均一性を個細胞レベルで解析することが可能となってきた。がんの腫瘍内不均一性の研究は新たなモダリティの登場により、全世界で施行されている領域である。しかしながら頭頸部がんの多くは稀少がんであるため症例の蓄積が困難であり、国際的にも報告が少なく、本邦においても不十分な状況である。本邦の頭頸部稀少がんが集積された当施設は研究推進のためアドバンテージがある。またこれまで治療抵抗性であり、方法のない患者の治療へと繋がるトランスレーショナルな領域であり、この領域の発展が強く望まれている。

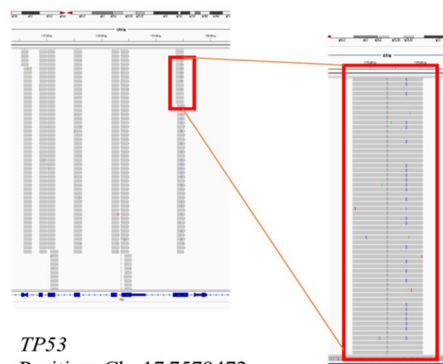
2. 研究の目的

本研究の目的は、頭頸部扁平上皮癌を時空間的にゲノム・トランスクリプトーム解析と、がんの不均一性やゲノム異常の蓄積、それに伴う治療抵抗性を理解し、予後への影響と新規ファーストラインとなる薬剤の選択による個別化治療開発を行うことにある。頭頸部癌においては異時性・同時性重複癌が多いことが知られていることに着目する。発生した重複癌の多くは異なるクローンから発生していることが明らかとなっており、それはfield cancerizationによると理解されている。しかしながら、そのサブポピュレーションには違いがあることから、多様性を規定するサブポピュレーションの違いを腫瘍発生機序やHPVのタイプ、形態学的変化と合わせて解析する。遺伝子変異解析: PHYILIPパッケージ系統樹推定プログラムを使用し、進化系統樹を作成した。生存期間解析: カプランマイヤーで解析。関連する因子をlog-rank検定を用いた単変量解析で抽出し、Cox比例ハザードモデルを用いた多変量解析を行った。

3. 研究の方法

2020年度は、2013～2015年に当科で外科的根治治療を行った、317例の匿名化された詳細な臨床情報のデータベースはすでに作成済みである。抽出した項目は下記14項目である。転機については随時更新を行う。性別、年齢、原発部位、TNM、病期、臨床所見、重複癌の有無、喫煙・飲酒歴、p16ステータス、治療内容(手術日、術式、術後治療)、切除検体所見(切除断端、断端距離、CISの有無、Ex)、再発の有無、再発治療内容、転帰については随時更新を行った。パラフィン包埋標本あるいは新鮮凍結標本からのDNAを抽出し、シーケンサーを用いて癌関連遺伝子のTP53、AKTHRAS、PIK3CAならびにCDKN2A, 2B, 1C、PTEN、NOTCH1-3、NF1をターゲットとしたエクソン領域を解析を進めている。2021年度はさらに追加された頭頸部扁平上皮癌FFPE検体からのmulti-regionエクソーム解析について50例以上解析を完了した。2022年度は頭頸部扁平上皮癌FFPE検体からのmulti-regionエクソーム解析に加え、再発症例について時間的な変化と転移リンパ節を含めた解析を6例について解析した。

次世代シーケンサーによるTP53変異
(頭頸部扁平上皮癌)



TP53
Position: Chr.17 7579472
G>G/C, snv, missense_variant, COSM4598
Total: 11182 reads (5739/5440, 48.64%)

4 . 研究成果

再発多発を繰り返す口腔がんは固有の塩基置換パターンに加え、相同組み換え修復異常 (signature3:BRCAness) との相関性が示された。また体細胞変異量 (TMB) が高く、ミスマッチ修復異常 (signature 6/15) やPOLE/D変異 (signature 10) と相関性を示す塩基置換パターンを示した。マルチサンプリングゲノム解析結果から独立クローン由来の多発型腫瘍が大半を占め、周辺非腫瘍組織全域において複数のがん遺伝子変異クローンの存在が示唆された。これまでの空間的な解析と時間的解析から一つの腫瘍と考えられている中に少なくとも3つ以上のクローンが存在することを明らかとした。また薬剤ターゲットとなり得るドライバーの領域的な存在を明確とした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9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 Ikegami M, Kohsaka S, Hirose T, Ueno T, Inoue S, Kanomata N, Yamauchi H, Mori T, Sekine S, Inamoto Y, Yatabe Y, Kobayashi H, Tanaka S, Mano H.	4. 巻 4
2. 論文標題 MicroSEC filters sequence errors for formalin-fixed and paraffin-embedded samples.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-021-02930-4.	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 Kumagai S, Koyama S, Itahashi K, et al (39著者 30番目)	4. 巻 40
2. 論文標題 Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Cell.	6. 最初と最後の頁 201-218
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ccell.2022.01.001.	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 Nishimura Y, Ryo E, Yamazaki N, Yatabe Y, Mori T	4. 巻 45
2. 論文標題 Cutaneous Primary NUT Carcinoma With BRD3-NUTM1 Fusion.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol.	6. 最初と最後の頁 1582-1584
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000001801.	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 Onidani K, Miura N, Sugiura Y, Abe Y, Watabe Y, Kakuya T, Mori T, Yoshimoto S, Adachi J, Kiyoi T, Kabe Y, Suematsu M, Tomonaga T, Shibahara T, Honda K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Possible Therapeutic Strategy Involving the Purine Synthesis Pathway Regulated by ITK in Tongue Squamous Cell Carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers (Basel)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers13133333.	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 Muto Y, Ryo E, Namikawa K, Takahashi A, Ogata D, Fujimura T, Yatabe Y, Aiba S, Yamazaki N, Mori T.	4. 巻 71
2. 論文標題 RB1 gene mutations are a distinct predictive factor in Merkel cell carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathol Int.	6. 最初と最後の頁 227-347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.13090.	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 Matsumoto Harunobu, Nasu Kaei, Shikama Ayumi, Shiozaki Takaya, Futagami Masayuki, Kai Kentaro, Mori Taisuke, Yano Mitsutake, Yamada Takashi, Teramoto Norihiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Pathological processes and pretreatment cytologic diagnosis of neuroendocrine carcinoma of the endometrium: addendum report of the Kansai Clinical Oncology Group/Intergroup study in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00288-4	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 MENG XUE, MATSUMOTO FUMIHIKO, MORI TAISUKE, MIURA NAMI, INO YOSHINORI, ONIDANI KAORU, KOBAYASHI KENYA, MATSUZAKI YUSUKE, YOSHIMOTO SEIICHI, IKEDA KATSUHIISA, HONDA KAZUFUMI	4. 巻 41
2. 論文標題 BP180 Is a Prognostic Factor in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1089 ~ 1099
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.14867	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 Murakami Naoya, Mori Taisuke, Machida Ryunosuke, Kodaira Takeshi, Ito Yoshinori, Shikama Naoto, Konishi Koji, Matsumoto Yasuo, Murakami Yuji, Nakamura Naoki, Yamashita Hideomi, Yorozu Atsunori, Yoshimura Michio, Inoue Koichi, Nozaki Miwako, Ishikura Satoshi, Itami Jun, Nishimura Yasumasa, Kagami Yoshikazu	4. 巻 -
2. 論文標題 Prognostic Value of Epithelial Cell Adhesion Molecules in T1 2N0M0 Glottic Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Laryngoscope	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lary.29348	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, Ando Mizuo, Matsumoto Fumihiko, Murakami Naoya, Omura Go, Honma Yoshitaka, Matsumoto Yoshifumi, Ikeda Atsuo, Sakai Azusa, Eguchi Kohtarō, Ito Akiko, Ryo Eigitsu, Yatabe Yasushi, Mori Taisuke	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 2021年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 105091 ~ 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 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 森 泰昌
2. 発表標題 頭頸部扁平上皮癌における p53-p16/RB 経路制御機構と早期癌発症および悪性度への関与
3. 学会等名 第66回日本病理学会秋期特別総会 (招待講演)
4. 発表年 2020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
---------	---------