

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09579

研究課題名(和文) PET/MRIとnCounterを用いた舌癌のRadiogenomics解析

研究課題名(英文) Radiogenomics analysis of tongue cancer using PET / MRI and nCounter

研究代表者

菅野 真史 (Kanno, Masafumi)

福井大学・学術研究院医学系部門(附属病院部)・助教

研究者番号：90444215

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)：研究計画の通り48症例の対象を選定し舌癌組織標本(FFPEブロック)からRNeasy FFPE Kit(Qiagen)を用いてRNA抽出を行い、精度に問題がないことを確認した。共同研究機関にてnCounter解析を行い、48検体全てにおいて通常通り完了できた。さらに、PET/MRI検査を主とした画像検査より20項目にわたる特徴量の抽出を試みたが、早期舌癌では腫瘍体積が小さいなどの理由からデータが不足となる数値が多く解析不十分となる症例が6例発生した。また、組織診断においても特徴の数値化を行ったが、不足値が3症例で存在することが判明した。現在追加で進行舌癌12例をリクルートし解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、世界初となる舌がんにおけるPET/MRIを用いたRadiogenomics解析が目的である。先行研究にてFDG PET/MRIは、浅いDOIをしばしば過大評価する傾向にはあるが、造影MRIに匹敵し、特に舌癌の局所診断に関してはPET/CTを遥かに凌駕すると報告した。本研究により最適な治療法の提示が可能となれば、個別化医療が実現する可能性がある。1)世界初の口腔癌におけるRadiogenomics解析であること、2)口腔癌の画像的予後予測としてPET/MRIを用いること、3)癌幹細胞マーカーが舌がんの治療予後因子となる可能性を追跡することの3点において革新的な研究である。

研究成果の概要(英文)：We selected 48 subjects as planned and performed RNA extraction from tongue cancer tissue specimens (FFPE blocks) using the RNeasy FFPE Kit (Qiagen), and confirmed that there were no accuracy problems. nCounter analysis was performed at the collaborating institution and could be completed as usual for all 48 samples. In addition, we attempted to extract 20 features from imaging examinations, mainly PET/MRI examinations, but in six cases, the analysis was insufficient due to insufficient data in many early-stage tongue cancer cases because of the small tumor volume and other reasons. In addition, we attempted to quantify the features in the histological diagnosis, but it was found that insufficient values existed in 3 cases. Currently, 12 additional cases of advanced tongue cancer are being recruited and analyzed.

研究分野：頭頸部がん

キーワード：Radiogenomics PET/MRI nCounter

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我々は「本当に、頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) は分子遺伝学的に不均一であり、p16 と肩を並べるような予後因子は存在しないのか」、「PET/MRI を用いれば HNSCC の放射線診断能は予後予測を補助できるレベルまで向上するのではないか」という2つの臨床的な問いに対する答えを求めて Radiogenomics 研究を遂行している。

Radiogenomics は、Radiomics から更に進化した概念であり、通常の放射線画像診断によって得られる画像情報や、患者の遺伝子プロファイルなどの分子遺伝情報、そして臨床予後情報の3者を omics させることで、全体的な関連性を探る手法である。もっとも研究の歴史がある中枢神経腫瘍の領域では多くの成果が報告されており (Radiomics and radiogenomics in gliomas; British Journal of Cancer.2021) その他の領域が追隨している。個別化医療が実現しつつある神経膠腫では Radiogenomics の成果を受けて、WHO 病期分類に分子学的・遺伝子情報を加え再編成し改訂された。

本研究には画像、遺伝子、臨床の各情報を総合的に診断し、予後予測および治療方針決定の精度を高める狙いがある。HNSCC は分子遺伝学的アプローチもしくは放射線画像診断アプローチの単独では治療予後予測が困難であっても、これらを統合し最新の機械学習によって分類すれば有意な結果を導き出せると考えた。

### 2. 研究の目的

#### 1) 世界初の舌癌における PET/MRI を用いた Radiogenomics 解析

世界的にも頭頸部癌の Radiogenomics は未開の領域である。また、他領域でも Radiogenomics に PET/MRI を用いた報告はない。正確に画像診断および組織診断された舌癌の予後をさらに分ける遺伝子経路を同定することは、個別化医療の基礎的な裏付けとして重要である。体細胞遺伝子異常の多様性があり様々な臨床経過をたどる頭頸部扁平上皮癌において、本研究により PET/MRI 画像情報と遺伝子発現および実際の臨床像を包括的に解析し、頭頸部癌における新たな研究領域としての Radiogenomics を確立する。

#### 2) 世界でも報告されていない舌癌 DOI 診断における PET/MRI の正確性を証明する

舌癌の新病期分類に則した PET/MRI の正確性評価は我々の報告以外行われておらず、証明されれば大きく臨床貢献できる。造影剤を必要としない正確な病期診断はさらに有用性が高まる。本研究では舌癌を対象を絞って DOI 測定を行ったうえで、病理組織との対比を行い、舌癌 T1 症例 (幅;20 mm DOI;7 mm): 造影 MRI(左)では描出できないが、PET/MRI(右)では正確に描出できる PET/MRI の有用性を数字として客観化し検証する。正確な DOI の治療前診断は、予防的郭清などの治療方針に大きく寄与し、機能温存治療や生命予後延長につながるができる。

#### 3) 今まで着目されていない SOX2 が治療予後因子となる可能性の追跡

舌癌における治療予後因子検索のための PCR アレイの結果から、未分化因子 SOX2 に注目した。多能性幹細胞と癌細胞の特徴は近似している部分があり、近年はこれらの幹細胞因子が癌の特徴である増殖因子要求性の低下、足場非依存性増殖能の獲得、不死化、転移能の獲得などに関与すると報告されている。

### 3. 研究の方法

母集団分散を考慮した DOI の正確性を示す統計的必要数を計算し、T1~T3 の舌癌 50 症例を解析することとした。通常の診療を行う中で、申請者が症例をリクルートしインフォームドコンセント及び諸検査をオーダーする。PET/MRI は PET/CT と同日に行うため、治療の遅れにつながることはない。治療内容は手術を優先とするが、症例検討会で検討し一貫性を保って行うこととした。

#### 1. PET/MRI による病期診断:

放射線科専門医・核医学専門医が、造影 CT、造影 MRI、PET/MRI、PET/CT 検査の読影を行い、DOI を判定する。これを術後の組織標本と比較することで DOI という数値によって PET/MRI の有用性が客観的に証明される。同時に画像抽出および解析、特徴抽出および解析を行う。PET/MRI の画像情報として、腫瘍最大径、DOI、腫瘍形態、SUV、エネルギー、コントラスト、エントロピー、ヒートマップ、インテンシティー、腫瘍辺縁部の明瞭度・不明瞭度、Normalized Mutual Information アルゴリズムを用いた線形変換による比較、腫瘍形態の3次元化など20項目以上の特徴量を抽出する。これらを Radiogenomics に用いる。

#### 2. 病理診断との比較検証:

病理医専門医が、組織標本における組織診断ならびに T 分類、DOI、浸潤様式、脈管及び神経周囲浸潤の診断を行う。また、特徴的遺伝子が同定された場合、それを証明するために免疫組織学検査を行う。

### 3. 舌癌固定標本の PCR アレイ・nCounter :

舌癌組織標本(FFPE ブロック)から RNeasy FFPE Kit(Qiagen)を用いて RNA 抽出を行い、さらに品質をチェックする。幹細胞因子の PCR アレイ (Stemcell Technologies 社 : Human Mesenchymal Stem Cell qPCR Array キット) で、96 種類の幹細胞関連因子を網羅的に発現分析し、SOX2 発現量の定量を行うとともに、SOX2 の蛋白発現を免疫組織化学染色で検討する。また、nCounter を用いて PanCancer Progression Panel( 770 遺伝子 )で解析し癌関連遺伝子の網羅的解析を行う。研究補助員 (土屋ひろこ) と協力して行う。

### 4. Radiogenomics 解析 :

遺伝子発現プロファイルと画像特徴プロファイルを統合的にクラスター分析し、これら二つのモダリティの関係性を明らかにする。この解析により腫瘍生物学的情報と放射線画像情報の両方を用いた分析が可能となり、その双方が強く影響し合う因子の抽出が可能となる。さらに治療予後と画像および遺伝子の関係は Chang-Gung Image Texture Analysis toolbox (CGITA) を用いてテクスチャ解析する。治療予後に関しては 2 年および 5 年の 2 回で評価する。

## 4 . 研究成果

研究計画の通り 48 症例の対象を選定し舌癌組織標本(FFPE ブロック)から RNeasy FFPE Kit(Qiagen)を用いて RNA 抽出を行い、精度に問題がないことを確認した。共同研究機関にて nCounter 解析を行い、48 検体全てにおいて通常通り完了できた。さらに、PET/MRI 検査を主とした画像検査より 20 項目にわたる特徴量の抽出を試みたが、早期舌癌では腫瘍体積が小さいなどの理由からデータが不足となる数値が多く解析不十分となる症例が 6 例発生した。また、組織診断においても特徴の数値化を行ったが、不足値が 3 症例で存在することが判明した。現在追加で進行舌癌 12 例をリクルートし解析を行っている。

本研究は、世界初となる舌がんにおける PET/MRI を用いた Radiogenomics 解析が目的である。先行研究にて FDG PET/MRI は、浅い DOI をしばしば過大評価する傾向にはあるが、造影 MRI に匹敵し、特に舌癌の局所診断に関しては PET/CT を遥かに凌駕すると報告した。本研究により最適な治療法の提示が可能となれば、個別化医療が実現する可能性がある。1 ) 世界初の口腔癌における Radiogenomics 解析であること、2 ) 口腔癌の画像的予後予測として PET/MRI を用いること、3 ) 癌幹細胞マーカーが舌がんの治療予後因子となる可能性を追跡することの 3 点において革新的な研究である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 菅野 真史
2. 発表標題 舌癌のT病期診断における PET-MRIと造影MRIの精度比較
3. 学会等名 第47回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅野 真史
2. 発表標題 頭頸部癌治療のリスク評価を進化・深化する検討
3. 学会等名 第46回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅野 真史
2. 発表標題 中部地方上咽頭がんの疫学調査
3. 学会等名 第45回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2021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	辻川 哲也 (Tsujikawa Tetsuya) (30380033)	福井大学・高エネルギー医学研究センター・准教授  (13401)	

6. 研究組織（つづき）

	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	今村 好章  (Imamura Yoshiaki)  (40223341)	福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・准教授    (13401)	
研究分担者	成田 憲彦  (Narita Norihiko)  (80345678)	福井大学・学術研究院医学系部門・客員教授    (13401)	

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