

令和 6 年 9 月 10 日現在

機関番号：87102

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16845

研究課題名（和文）唾液腺癌癌幹細胞をターゲットとした新規治療戦略の開発

研究課題名（英文）Targeted therapy for salivary gland cancer stem cells

研究代表者

中野 貴史（Nakano, Takafumi）

独立行政法人国立病院機構（九州がんセンター臨床研究センター）・その他部局等・客員研究員

研究者番号：20770100

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：九州がんセンター及び九州大学での症例の収集及び臨床病理学的情報の収集・解析を行なった。進行唾液腺癌ではEGFR発現の頻度は高いが、EGFRをターゲットとしたレジメンの治療効果は十分には得られなかった。また、進行頭頸部癌においては免疫チェックポイント阻害薬の忍容性と効果について示した。特にこれまでに十分なデータのなかった上咽頭癌でも効果を認めることを示し、免疫チェックポイント阻害薬が治療の選択肢の一つになり得ることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液腺癌の有効な治療法は手術療法のみであり、遠隔転移を有する症例に対しては有効な全身治療選択肢や十分な予後マーカーは未解明である。唾液腺癌でEGFRは高頻度に発現していることを多数の症例で示せたことは、今後の治療ターゲットになり得ることを示したため意義深い。更に、上咽頭癌を除く頭頸部癌で有効性が証明されていた免疫チェックポイント阻害薬を含む治療レジメンも、上咽頭癌でも忍容性・有効性を明らかにした。手術困難例が多く、転移しやすい上咽頭癌に対して有効な治療選択肢が増えたことも非常に意義深いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We retrospectively reviewed the medical records of patients who were diagnosed with salivary gland cancer or head and neck cancer at the Kyushu University Hospital and National Kyushu Cancer Center. We revealed that most salivary gland cancers were positive for EGFR expression by IHC but that EGFR-targeting by the EXTREME regimen showed little efficacy. We also showed tolerability and efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICIs) for advanced-stage head and neck cancer patients. In particular, we also revealed tolerability and efficacy of ICIs for nasopharyngeal carcinoma patients, for which there have been insufficient data to date, also shows ICIs could be a good treatment option for this type of cancer.

研究分野：唾液腺癌

キーワード：唾液腺癌 頭頸部癌 癌幹細胞 分子標的治療

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

高悪性度唾液腺癌は、頭蓋底浸潤などの解剖学的な複雑さに起因する手術困難な場合が多く、遠隔転移症例は予後不良である事が多い。更に、他臓器の様に有効な化学療法は殆ど存在せず、手術治療が未だ治療の中心である。その原因として、唾液腺癌癌幹細胞がこれまでの化学療法に抵抗性である事が挙げられる。しかし、従来の唾液腺癌治療・研究では癌幹細胞の存在を考慮されずに行われており、癌幹細胞(CSC)と癌幹細胞以外の癌細胞(non-CSC)を個別に治療のターゲットとした研究はない。

### 2. 研究の目的

本申請研究は、代表研究者が従来より行ってきた唾液腺癌研究及び癌幹細胞研究の経験を最大限に生かし、唾液腺癌の新規細胞株樹立と、唾液腺癌 CSC を直接のターゲットとした治療と non-CSC をターゲットとした既存の化学療法と併用する事で唾液腺癌の化学療法抵抗性を克服する新たな治療戦略の確立を目指すものである。

### 3. 研究の方法

- 1) 症例の集積・診断確定(九州がんセンター、九州大学、九州大学関連病院)
- 2) 臨床病理学的因子と予後の解析
- 3) 免疫組織化学染色法、in situ hybridization (ISH)法によるタンパク発現・遺伝子発現と病理組織学的因子・予後の解析
- 4) 唾液腺癌細胞株の樹立・マウスモデルの創製
- 5) 細胞株における治療抵抗性の解明、治療シークエンスによる治療効果の解明

### 4. 研究成果

頭頸部癌の中で唾液腺癌は非常に稀であり、術前診断の困難さからその症例集積が困難である。しかし、これまで長年に渡り九州大学病院および九州がんセンターは多くの唾液腺腫瘍に対する治療を行ってきた歴史があり、症例集積に最適であった。唾液腺癌は時代とともに診断が変化してきた特徴的な癌腫であるため、標本の見直しおよび現在の診断基準にあった診断に修正することが重要である。従って、新たに追加となった組織型を加味しながら初年度に症例の収集及び再度診断の確定・臨床病理学的情報の収集を行った。

Epidermal growth factor receptor (EGFR)は頭頸部扁平上皮癌でタンパク過剰発現が指摘されており、EGFR に対する分子標的治療(cetuximab)の有効性が証明されている。特に、再発・転移頭頸部癌に対してはEXTREME regimen(cisplatin/carboplatin, 5-FU, cetuximab)の有効性が示されている。しかし、唾液腺癌に対してはEGFR のタンパク発現・遺伝子過剰発現、EXTREME regimen の有効性については十分に解明されていなかった。そこでEXTREME regimen で加療した唾液腺癌症例をレトロスペクティブにEGFR のタンパク発現・遺伝子過剰発現、EXTREME regimen の有効性を評価した。免疫組織化学染色ではEGFR のタンパク過剰発現は約78%の症例に認められたが、EGFR 遺伝子過剰発現は約17%のみであった。EXTREME regimen で加療した症例で解析したところ、疾患特異的生存率と全生存率いずれも、EGFR タンパク過剰発現症例で予後良好の傾向にあったが統計学的優位差は認めず、EGFR 遺伝子過剰発現の有無と予後に関連はないという結果であった。しかし、症例数が少なく組織型によっても治療効果が異なる可能性が考えられるため今後の症例蓄積が必要と考えられた。本研究成果は、英語論文として発表しIn vivo(In Vivo. 2022 Mar-Apr;36(2):979-984)に掲載されている。しかし、当初の目的であった、唾液腺癌細胞株の樹立はできていない。その最大の理由として、術前診断が困難であることが挙げられる。また、海外からの細胞株入手も困難であったことから唾液腺癌マウスモデルの樹立も出来なかった。

更に、代表研究者が以前の唾液腺癌研究でおこなっていたPD-L1/L2 シグナル経路(Oral oncology 2019;90:30-37)をターゲットとした免疫チェックポイント阻害薬についての検討も当該研究期間内に行った。進行頭頸部癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の効果の評価に関して、臨床治験や症例報告などの限られたデータしかなかったため、リアルワールドのデータ集積が重要と考え解析を行った。頭頸部癌において臨床治験において除外されていた唾液腺癌などの癌腫も含め多数の解析を行った結果、リアルワールドでも忍容性や治療効果(objective response rate 32.0%, disease control rate 61.9%)を認めた。免疫チェックポイント阻害薬と殺細胞性化学療法の併用療法の方が単独療法よりも優位に治療効果を認めた( $P=0.0039$ )。特に、遠隔転移症例、前治療がされていない症例、PS 良好な症例では併用療法が有用であることを示すことができた。本研究成果は、英語論文として発表しAnticancer research (Anticancer research, 2022, 42(7), 3653-3664.)に掲載されている。

また、頭頸部癌の中で上咽頭癌では免疫チェックポイント阻害薬の効果・忍容性の評価は、これまでのところ不十分なままであった。そこで、九州がんセンターおよび九州大学で治療をおこなった上咽頭癌症例の解析もおこなった。上咽頭癌症例においても、忍容性や高い治療効果(objective response rate 39.1%, disease control rate 78.3%)を認め、EBER-ISH陽性症例

の方がより治療効果及び予後が良い傾向にあった。免疫チェックポイント阻害薬単独療法は上咽頭癌に対して有効で忍容性のある治療法であることを示すことができた。本研究成果は、英語論文として発表し *In Vivo* (*In Vivo*. 2023 Mar-Apr;37(2):747-755.)に掲載されている。

これまで蓄積したデータ及び研究手法を用いて、中咽頭癌においても検討を行った。p16 免疫染色陽性かつ HPV-ISH 陰性症例は、p16 免疫染色陽性かつ HPV-ISH 陽性症例より予後不良であった (全生存率:  $P = 0.0484$ )。また HPV 陽性症例は、リンパ節転移陽性 ( $P < 0.0001$ ) や低い進行期 ( $P < 0.0001$ ) と統計学的な関連を認めた。p16 陽性中咽頭癌は予後良好と広く知られている。しかし、今回の検討で p16 陽性であったとしても HPV-ISH 陰性症例は予後不良であることが解明された。従って、治療強度を決定するためには、より正確な HPV 判定の重要性が示唆された。本研究成果は、英語論文として発表し *Eur Arch Otorhinolaryngol* (*Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2022 Jan 3.)に掲載されている。

その他にも、これまでの研究手法を活かし、非常に稀な外耳道癌についても症例の集積及び免疫微小環境の評価・解析をおこなった。PD-L1 発現は予後不良と相関(無増悪生存期間、 $P < 0.0001$ ; 全生存率、 $P = 0.0009$ )を認めた。CD8+腫瘍浸潤 T 細胞の密度が高いほど予後が良好(無増悪生存期間、 $P = 0.0012$ 、全生存期間、 $P = 0.0120$ )であったが、Foxp3+ TILs の高密度は予後不良の傾向を認めた。CD8+腫瘍浸潤 T 細胞が低密度かつ PD-L1 陽性群が有意に予後不良であった。ネオアジュバント放射線化学療法治療症例では PD-L1 発現は全生存率の低下と関連 ( $P = 0.0132$ ) しており、放射線化学療法治療症例では CD8+腫瘍浸潤 T 細胞の密度が高いほど、治療の完全奏効と関連する傾向を認めた。以上から、腫瘍の免疫微小環境を評価することで、外耳道癌の予後予測および個別化治療に繋がる可能性が示唆された。本研究成果は、英語論文として発表し *Laryngoscope* (*Laryngoscope*. 2021 Dec;131(12):2674-2683.)に掲載されている。

そして、これまでの知見を活かして、現在は頭頸部扁平上皮癌(特に舌癌)に関する研究を進行中であり、その一部を海外学会で報告(7th World Congress of the International Federation of Head and Neck Oncologic Societies, 2023、AACR-AHNS Head and Neck Cancer Conference: Innovation Through Basic, Clinical and Translational Research, 2023、AHNS 11th International Conference on Head & Neck Cancer, 2023)している。

## 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 9件）

1. 著者名 MANAKO TOMOMI, YASUMATSU RYUJI, NAKANO TAKAFUMI, MATSUO MIOKO, TAKEUCHI TORANOSHIN, TAURA MASAHIKO, TAMAE AKIHIRO, YAMAUCHI MORIYASU, MASUDA MUNEYUKI, TAGUCHI KENICHI, NAKAGAWA TAKASHI	4. 巻 37
2. 論文標題 Immune Checkpoint Inhibitors for Nasopharyngeal Carcinoma in a Real-world Setting in Japan	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 747 ~ 755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.13137	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 NAKANO TAKAFUMI, YASUMATSU RYUJI, HASHIMOTO KAZUKI, KUGA RYOSUKE, HONGO TAKAHIRO, YAMAMOTO HIDETAKA, MATSUO MIOKO, WAKASAKI TAKAHIRO, JIROMARU RINA, MANAKO TOMOMI, TOH SATOSHI, MASUDA MUNEYUKI, YAMAUCHI MORIYASU, KURATOMI YUICHIRO, TAURA MASAHIKO, TAKEUCHI TORANOSHIN, NAKAGAWA TAKASHI	4. 巻 42
2. 論文標題 Real-world Experience With Pembrolizumab for Advanced-stage Head and Neck Cancer Patients: A Retrospective, Multicenter Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3653 ~ 3664
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.15854	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 NAKANO TAKAFUMI, YASUMATSU RYUJI, HASHIMOTO KAZUKI, ET AL.	4. 巻 36
2. 論文標題 Retrospective Study of Cisplatin/Carboplatin, 5-Fluorouracil Plus Cetuximab (EXTREME) for Advanced-stage Salivary Gland Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 979 ~ 984
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12790	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 Jiromaru Rina, Yasumatsu Ryuji, Yamamoto Hidetaka, Kuga Ryosuke, Hongo Takahiro, Nakano Takafumi, Manako Tomomi, Hashimoto Kazuki, Wakasaki Takahiro, Matsuo Mioko, Nakagawa Takashi	4. 巻 279
2. 論文標題 A clinical analysis of oropharyngeal squamous cell carcinoma: a single-institution's experience	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Archives of Oto-Rhino-Laryngology	6. 最初と最後の頁 3717 ~ 3725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00405-021-07236-z	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 Takafumi Nakano, Ryuji Yasumatsu, Kazuki Hashimoto, et al.	4. 巻 36
2. 論文標題 Retrospective Study of Cisplatin/Carboplatin, 5-Fluorouracil Plus Cetuximab (EXTREME) for Advanced-stage Salivary Gland Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 979 ~ 984
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.12790	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 Jiromaru Rina, Yasumatsu Ryuji, Yamamoto Hidetaka, Kuga Ryosuke, Hongo Takahiro, Nakano Takafumi, Manako Tomomi, Hashimoto Kazuki, Wakasaki Takahiro, Matsuo Mioko, Nakagawa Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 A clinical analysis of oropharyngeal squamous cell carcinoma: a single-institution's experience	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Archives of Oto-Rhino-Laryngology	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/s00405-021-07236-z	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 Hongo Takahiro, Kuga Ryosuke, Miyazaki Masaru, Komune Noritaka, Nakano Takafumi, Yamamoto Hidetaka, Koike Kensuke, Sato Kuniaki, Kogo Ryunosuke, Nabeshima Kazuki, Oda Yoshinao, Nakagawa Takashi	4. 巻 131
2. 論文標題 Programmed Death Ligand 1 Expression and Tumor Infiltrating Lymphocytes in Temporal Bone Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Laryngoscope	6. 最初と最後の頁 2674 ~ 2683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lary.29689	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 Jiromaru Rina, Yamamoto Hidetaka, Yasumatsu Ryuji, Hongo Takahiro, Nozaki Yui, Nakano Takafumi, Hashimoto Kazuki, Nakagawa Takashi, Oda Yoshinao	4. 巻 79
2. 論文標題 p16 overexpression and Rb loss correlate with high risk HPV infection in oropharyngeal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Histopathology	6. 最初と最後の頁 358 ~ 369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/his.14337	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 中野貴史、久保和彦、吉田崇正、小出彩佳、中川尚志	4. 巻 67
2. 論文標題 仰臥位で聴力が改善した外リンパ瘻の1例	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻と臨床	6. 最初と最後の頁 381~385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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12件(うち招待講演 0件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 薦田正人、中野 貴史、藤 賢史、花村文康、奥村祐太、西嶋智洋、益田 宗幸、江崎泰斗
2. 発表標題 抗アンドロゲン療法が奏効した脳転移を伴うHER2陰性唾液腺導管癌の一例
3. 学会等名 日本臨床腫瘍学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 益田 宗幸、宮城 慎平、黒木 圭二、佐藤 晋彰、中野 貴史、力丸 文秀、藤 賢史、國武 直信、檜垣 雄一郎
2. 発表標題 Chemoradieselectionによる頭頸部癌治療強度の至適化前向き研究
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤 晋彰、中野 貴史、大森 裕文、中川 尚志、益田 宗幸
2. 発表標題 YAP1/PITX2によって誘導される頭頸部扁平上皮癌の転写リプログラミング機構の解明
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮城 慎平, 中野 貴史, 藤原 義宜, 黒木 圭二, 原 大貴, 佐藤 晋彰, 力丸 文秀, 藤 賢史, 檜垣 雄一郎, 益田 宗幸
2. 発表標題 Pembrolizumabの投与を行った甲状腺粘表皮癌の一例
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保 和彦, 脇園 貴裕, 中野 貴史, 小出 彩佳, 吉田 崇正, 園田 世里夏, 友延 恵理, 中川 尚志
2. 発表標題 当科で施行したリンパ節生検症例の検討
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 真子 知美, 中野 貴史, 松尾 美央子, 竹内 寅之進, 田浦 政彦, 玉江 昭裕, 山内 盛泰, 倉富 勇一郎, 益田 宗幸, 田口 健一, 安松 隆治, 中川 尚志
2. 発表標題 上咽頭癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の効果について
3. 学会等名 日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒木 圭二, 中野 貴史, 力丸 文秀, 藤 賢史, 檜垣 雄一郎, 益田 宗幸
2. 発表標題 HMB配合製剤によるCRT誘発粘膜炎症抑制効果の第2相ランダム化比較試験
3. 学会等名 日本頭頸部外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	中野貴史、益田宗幸、K.A.Warner、A.E.Oklejas、Z.Zhang、C.R.Ramirez、A.G.Shuman、J.E.Nor、安松隆治、中川尚志
2. 発表標題	粘表皮癌癌幹細胞に対するmTOR阻害薬を用いた治療効果の検討
3. 学会等名	第45回頭頸部癌学会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	中野 貴史, 久保 和彦, 園田 世里夏, 友延 恵理, 中川 尚志
2. 発表標題	多形腺腫由来癌肉腫の1例
3. 学会等名	第122回耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Masuda M, Omori H, Sato K, Nakano T, Penninger J, Gutkind J.S.
2. 発表標題	12)Environment-induced YAP1 transcriptional reprogramming drives head and neck cancer.
3. 学会等名	7thWorld Congress of the International Federation of Head and Neck Oncologie Societies (国際学会)
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	Masuda M, Omori H, Sato K, Nakano T, Penninger J, Gutkind J.S.
2. 発表標題	13)Environment-induced YAP1 transcriptional reprogramming drives head and neck cancer.
3. 学会等名	AACR-AHNS Head and Neck Cancer Conference:Innovating Through Basic,Clinical and Translational Research (国際学会)
4. 発表年	2023年



1. 発表者名 Masuda M, Omori H, Sato K, Nakano T, Penninger J, Gutkind J.S.
2. 発表標題 14) YAP1-induced transcriptional reprogramming drives symbiotic evolution of head and neck cancer
3. 学会等名 AHNS 11th International Conference on Head & Neck Cancer (国際学会)
4. 発表年 2023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