

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20775

研究課題名（和文）HPV関連頭頸部癌の発癌にエピトランスクリプトーム異常はどのように寄与するか

研究課題名（英文）How does epitranscriptomal disorder affects the tumorigenesis of HPV-associated head and neck cancer

研究代表者

谷口 緑（Taniguchi, Midori）

九州大学・医学研究院・助教

研究者番号：40965240

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：中咽頭癌におけるHigh risk HPV関連癌の割合や予後が解明されてきたが、下咽頭癌・喉頭癌においては十分な検証データはなかった。本研究においては、患者組織サンプルの免疫組織化学染色やChromogenic in situ Hybridization法による解析により、HPV感染はRbの発現状態と関連性を示した。本研究においてもHPV感染は非感染癌と比べて有意に予後良好であったが、腫瘍の局在や広がり方によっては、HPV陰性と陽性で予後に差がない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

一般的に予後不良と言われてきた頭頸部癌のなかでも、HPV関連癌は予後良好であることが解明されている。HPV関連癌の病態解明は、過剰治療を防ぎ、機能の温存と治療後のQOLの改善へ寄与する。HPV関連癌であっても腫瘍の局在や進展によってはHPV陰性の癌と予後に差がない場合があるという本研究結果により、HPV陰性の癌と同等の治療強度が求められるHPV関連癌があることが考察され、治療方針決定にHPV関連癌かどうかだけではなく、腫瘍の解剖学的な情報も重要となりうることを示された。

研究成果の概要（英文）：Ratio and prognosis of HPV-associated oropharyngeal cancer have been documented, but little is understood about those of HPV-associated hypopharyngeal and laryngeal cancer. In this research, association of HPV infection and state of Rb expression were revealed by chromogenic in situ Hybridization and immunohistochemistry of patients' histopathological specimen. Progression of HPV-associated cancer is better than HPV-independent carcinoma, but no difference was observed between HPV-associated or independent cancers in tumors of some anatomical locations or patterns of extension.

研究分野：人体病理学

キーワード：HPV 頭頸部癌

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトパピローマウイルスは、ウイルス遺伝子型により発癌リスクが異なる。高リスク型感染は、子宮頸癌などの粘膜部癌の発癌原因となり、近年は特に HPV 関連頭頸部癌が急増している。一般に頭頸部癌は、初発時にリンパ節転移を認めるなど予後不良であるが、一方で HPV 関連頭頸部癌は非関連癌と比べ一般的に生命予後は良好であるとされる。しかし、ときに非関連癌同様に高悪性度のもも存在しその原因は不明である。

申請者の所属する研究室においては、これまで HPV 関連頭頸部癌に関する診断特異的マーカーの同定(Histopathol. 2021)、治療標的となりうる PD-L1 発現や EGFR 変異などの分子異常(Mod Pathol. 2021)について報告してきた。しかし、解析の過程において、タンパク質の発現異常が遺伝子異常のみでは説明できないものを多く認めた。近年、遺伝子発現の調節機構として、RNA 転写後にさまざまな化学修飾遺伝子発現を調節する概念であるエピトランスクリプトミクスが見出され(Barbieri et al. Nat Rev Cancer. 2020)、複数の癌種においてこの機構における異常が報告されている。頭頸部癌においては RNA 脱メチル化酵素の発現が RNA メチル化を予後不良因子であるとの報告があるものの、HPV 関連癌かどうかによる分類や、修飾される標的遺伝子、その詳細メカニズムに関する研究例は過去にない。上述のように既報の頭頸部癌における研究では、HPV 関連癌/非関連癌で比較検討はなされていないが、RNA 脱メチル化酵素の発現異常がある点から、HPV 関連頭頸部癌においてもエピトランスクリプトミクス異常があることが推定される。さらに、申請者らの研究において HPV 関連頭頸部癌においてタンパク質異常発現の原因となる原因遺伝子異常がないケースがあることも、より強くエピトランスクリプトミクス異常の存在が示唆される。HPV 関連頭頸部癌をエピトランスクリプトミクス制御の破綻による発癌という観点から病態解析を行うことは、新規創薬標的の探索に重要と考える。

また、HPV 関連頭頸部癌は、HPV 非関連頭頸部癌と比較し、生命予後が良好であるため、過剰治療による機能喪失を最小限に留めることが求められるが、一部の予後不良例の混在や若年発症の傾向にあることが問題となっている。このため、HPV 関連癌の病態を解明し、予後不良例の予測法を確立することが急務である。頭頸部癌は、口腔、鼻腔、副鼻腔、中咽頭、下咽頭・喉頭などさまざまな領域に発生する。頭頸部癌の中でも、中咽頭癌においては HPV 関連癌の割合や予後が解明されてきたが、下咽頭癌・喉頭癌においては十分な検証データはなかったため、解剖学的な視点にも着目し HPV 関連癌の病態について解析を行い、予後不良例の予測の確立を目指す。

## 2. 研究の目的

頭頸部癌の中でも、中咽頭癌においては HPV 関連癌の割合や予後が解明されてきたが、下咽頭癌・喉頭癌においては詳細な検討が行われておらず、下咽頭癌・喉頭癌での HPV の検出率について信頼できる報告はない。また、下咽頭癌・喉頭癌においては HPV 関連癌かどうかは予後に影響を与えるかどうか未解明である。中咽頭においては、口蓋扁桃や舌扁桃などの扁桃領域から生じる癌での HPV 感染の検出率は高い一方、軟口蓋などの非扁桃領域から発生した癌ではほとんど検出されない。解剖学的には、下咽頭、喉頭、中咽頭は互いに近接しており、進行例では中咽頭癌が下咽頭または喉頭に浸潤し、下咽頭癌や喉頭癌もまた、進行例になると中咽頭に浸潤する場合がある。中咽頭扁平上皮癌および中咽頭を含む多部位腫瘍では発癌リスクの高い HPV 感染をスクリーニングするための p16 免疫組織化学染色が推奨されているが、下咽頭癌や喉頭癌などの非中咽頭扁平上皮癌では推奨されていない。また、中咽頭と下咽頭/喉頭の境界を含む癌における HPV 感染に焦点を当てた先行研究はこれまでに報告がない。この研究の目的は、中咽頭との連続性の有無にかかわらず、下咽頭癌および喉頭癌における HPV 感染率と予後を解明することである。

## 3. 研究の方法

九州大学病院耳鼻咽喉・頭頸部外科において、2003 年～2020 年の間に喉頭・下咽頭扁平上皮癌と診断を受けた患者 467 人から 480 例(浸潤癌のみ)の腫瘍を抽出した。患者はすべて生検所見に基づいて病理組織学的に診断され、その後手術または化学放射線療法で治療された。免疫組織化学染色および in situ hybridization を行う検体は、酸脱灰が行われていないものが使用された。それぞれの症例で p16、Rb の免疫組織化学染色によって、HPV の感染についてスクリーニングを行い、中咽頭癌で確立された HPV 関連頭頸部癌に関する診断特異的マーカーが頭頸部の他の領域でも同様の意義を持つかの検証を行った。HPV 感染の可能性が高い症例においては HR-HPV mRNA を in situ hybridization で同定した。

各症例において病変の広がりを確認し、中咽頭粘膜への連続性や、中咽頭癌との重複癌がないかどうか、またそれぞれにおける HPV 感染の有無について検討し、8 群に症例を分類した(純粋型中咽頭癌の HPV 関連/非依存性、複合型の HPV 関連/非依存性、純粋型下咽頭癌・喉頭癌の HPV 関連/非依存性、同時型の HPV 関連/非依存性)。純粋型は、1 つの部位に限定された腫瘍として

定義された。複合型は、中咽頭と、喉頭、下咽頭、鼻咽頭、口腔などの非中咽頭部位を含む多部位腫瘍と定義された。同時型は、中咽頭と、喉頭、下咽頭、口腔などの別の部位に複数の独立した癌を同時に有する症例として定義された。隣接する病変は、画像、摘出検体の肉眼所見・組織所見から離れた病変であることが確認された。同時型では、同一患者の病変間で T、N、M、および臨床病期が異なる場合、より高い臨床病期の腫瘍が主病変として採用された。このように分類された各群の予後についての解析も行った。

#### 4．研究成果

患者組織サンプルの免疫組織化学染色や Chromogenic in situ Hybridization 法による解析により、HPV 陽性症例は、p16 陽性および Rb の部分的喪失パターンと関連していることが示された。

High Risk HPV は、中咽頭のみにも局在する群の 64.6%(104 例/161 例)で検出され、下咽頭・喉頭のみにも局在する群では 0.4%(1 例/253 例)で検出された。下咽頭・喉頭のみのおける High Risk HPV 陽性例は 1 例のみで、声帯発生であった。多部位合併型の群では、25%(10 例/40 例)で HPV 感染が観察され、HPV 陽性の 10 症例は喉頭または下咽頭にまで及ぶ中咽頭癌であった。中咽頭のみにも局在する癌の高 T 期 (T3/T4) 症例の中で、HPV 陽性症例はより良い予後を示した (  $p = 0.0144$  ) が、HPV 陽性複合多部位合併型で中咽頭にも病変を認める群については同様の解剖学的な局在を示す HPV 陰性の群よりも予後が有意に良いという結果は示さなかった (  $p = 0.9428$  )。この結果は、下咽頭・喉頭のみにも局在する癌における High Risk HPV 感染は非常にまれであることを示唆する。

本研究においては、既報と同様に HPV 感染癌は非感染癌と比べて有意に予後良好であったが、腫瘍の局在や広がり方によっては、HPV 陰性と陽性で予後に差がないことが明らかとなった。

一般的に予後不良と言われてきた頭頸部癌のなかでも、HPV 関連癌は予後良好であることが解明されている。HPV 関連癌の病態解明は、過剰治療を防ぎ、機能の温存と治療後の QOL の改善へ寄与する。その一方で、HPV 関連癌であっても腫瘍の局在や進展によっては HPV 陰性の癌と予後に差がない場合があるという本研究結果によって、HPV 陰性の癌と同等の治療強度が求められる HPV 関連癌があることが考察され、治療方針決定に HPV 関連癌かどうかだけでなく、腫瘍の解剖学的な情報も重要となりうることを示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kuga Ryosuke, Yamamoto Hidetaka, Jiromaru Rina, Hongo Takahiro, Yasumatsu Ryuji, Matsuo Mioko, Hashimoto Kazuki, Taniguchi Midori, Nakagawa Takashi, Oda Yoshinao	4. 巻 47
2. 論文標題 HPV Infection in Squamous Cell Carcinoma of the Hypopharynx, Larynx, and Oropharynx With Multisite Involvement	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 American Journal of Surgical Pathology	6. 最初と最後の頁 955 ~ 966
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/PAS.0000000000002086	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 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 久我 亮介、山元 英崇、谷口 緑、小田 義直
2. 発表標題 下咽頭、喉頭および中咽頭扁平上皮癌におけるHPV 感染
3. 学会等名 第112回日本病理学会総会
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
---------	---------