

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592597

研究課題名(和文) ヒト乳頭腫ウイルス関連頭頸部癌に対する低侵襲な治療法の開発にむけて

研究課題名(英文) Development of less-intensive treatment for HPV-associated head and neck cancer.

研究代表者

星川 広史 (Hoshikawa, Hirohi)

香川大学・医学部・准教授

研究者番号：70294767

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)：ヒトパピローマウイルス(HPV)が頭頸部がん、特に咽頭がんの発癌に関与することが近年明らかとなり、従来の酒、たばこ関連の咽頭がんより予後が良好で、独自の治療法の確立が急務である。今回HPV陽性咽頭がんの発生率、予後を検討するとともに、手術時に摘出したがん細胞を用いて放射線、抗癌剤の感受性を調べ、HPV関連の有無で効果の違いがあるかどうか検討した。HPVと関連するp16タンパクの発現の有無で予後と比較したところ、p16タンパク陽性群で100%、陰性群で81.3%と陽性群で良好であった。今回の検討では手術適応群でのHPV陽性例が少数で、HPVの発現の有無での治療の効果の違いは明らかとならなかった。

研究成果の概要(英文)：It is known that the incidence of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) associated with papillomavirus (HPV) infection has increased over the past decades. Evidence from retrospective case series suggests improved prognosis in patients with HPV-positive HNSCC, thus the development of less-intensive treatment is expected. Although overall survival in patients with HPV-positive was better than that with HPV-negative tumors, no significant difference was observed. In this study, we could not show the difference of sensitivity to radiation and anti-cancer drug according to HPV status using collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST).

研究分野：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

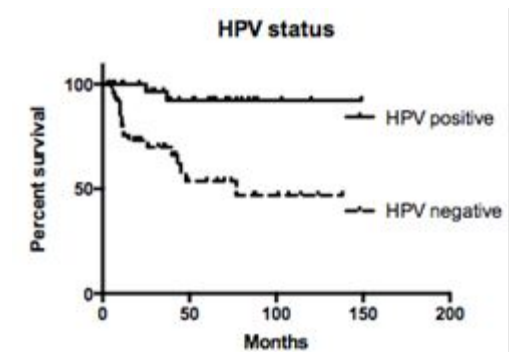
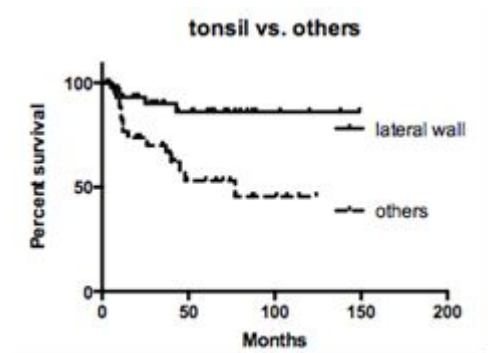
キーワード：papillmavirus head and neck p16 prognosis radiosensitivity drugsensitivity

1. 研究開始当初の背景
子宮頸がんにおいてヒトパピローマウイルス(HPV)感染が発症に関与することが明らかとなり、近年では咽頭がんにおいても HPV 感染の関与が明らかとなってきた。HPV 関連咽頭がんは他の頭頸部がんに比べ予後が良好とされ、治療法の最適化、個別化が必要である。
2. 研究の目的
HPV の陽性率を検討するとともに、HPV の有無による放射線、抗癌剤の効果の差異を検討し、放射線線量の減量や最適な薬剤との組み合わせなど、より低侵襲な治療法の確立を目的とする。
3. 研究の方法
(1) 2000 年以降の病理学的に検討可能な中咽頭がん症例において p16 蛋白の免疫染色を用いて HPV の関与の有無を検討。
(2) 新規に検体を採取できた症例において、DNA による HPV の関与、タイプの検討。
(3) 手術時に検体を採取できた症例において、CD-DST 法を応用した放射線ならびに抗がん剤の効果の検討。
(4) 手術時に採取したがん細胞より細胞株を樹立し、培養細胞レベルでの放射線、抗癌剤感受性を検討。
(5) p53 蛋白、Ki-67 index との相関、PET 画像と p16 status の相関を検討。
4. 研究成果
(1) 2000-2014 年の間に当科で加療し、かつ免疫染色による評価が可能であった 85 例において p16 タンパクの免疫染色を用いて HPV の関与を検討したところ、p16 陽性症例は 34 例 40%であった。中咽頭亜部位別に検討すると、側壁(口蓋扁桃)原発例が 47 例で、そのうち 31 例 66%で p16 陽性であった。それ以外の前壁、後壁、上壁型は 38 例で、そのうち p16 陽性は 3 例 8%にとどまり、両群間に有意差 ($p < 0.001$) を認めた。

| | p16 (+) | p16 (-) | 5-y survival |
|------------------|-------------|----------|--------------|
| Tonsil n=47 | 31 (66%) | 16 (34%) | 86.1% |
| Other sites n=38 | 3 (8%) | 35 (92%) | 53.1% |
| | $p < 0.001$ | | $p = 0.0035$ |

観察期間中に死亡した症例は 20 例、部

位別には側壁型が 5 例、それ以外が 15 例で、観察時点での生存率は側壁型 93.3%、それ以外が 57.7%で、p16 status で見ると p16 陽性群で 94.1%、p16 陰性群で 66.7%であった。
Kaplan-Meier による 5 年全生存率は部位による比較で 86.1% vs. 53.1% ($p = 0.0035$)、p16 status による比較で 92.2% vs. 53.6% ($p = 0.0004$)と、側壁型、p16 陽性で有意に生存率が高かった。



(2) HPV-DNA の検討が可能であった p16 陽性側壁癌 11 例で検討したところ、10 例 (91%) で HPV-DNA が検出され、タイピングでは全例 type16 であった。今回の検出は type16, 18, 33 に限ったものであるため、検出できなかった 1 例も他のタイピングである可能性は否定できなかった。

(3) 採取したがん組織を一時培養して、CD-DST 法を応用した放射線ならびに抗がん剤の感受性試験を試みた。当初は自研究室で培養を試みたが、生検時で得られる組織量では十分な培養が得られず、検討が困難であった。そこで手術時に採取した組織から十分量のがん組織を分離し、かつ実績のある外注委託にて CD-DST による検討を行った。

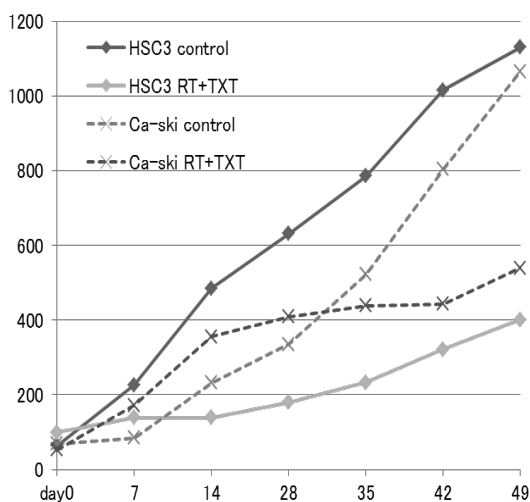
2012 年 7 月から 2013 年 11 月まで外注依頼による検討が可能であったが、その後機器のメンテナンスの終了に伴い施行不可となり、検討出来た症例は 18 例に留まった。さらに、その期間中に手術を施行した中咽頭がん症例は 2 例に留ま

ったため詳細な検討はできなかった。下記はそれぞれの症例における5Gy照射時の細胞増殖抑制率、TXT投与時の抑制率、5Gy照射とTXT併用時の抑制率を示している。P16陽性、陰性の扁桃がんが各1例のみで比較は困難であったが、p16陽性症例で放射線、抗癌剤とも高い抑制率を示した。しかしながらp16陽性であった舌癌症例でより高い抑制効果を示し、またp16陰性で扁桃がん以外の症例の平均値と比較しても抑制率に差は認めなかった。当初の目的であった、化学放射線治療症例において臨床効果とCD-DSTの結果を比較することが技術的にできなかった。

| | 5Gy | TXT | 5Gy+TXT |
|---------------|-----|-----|---------|
| p16(+) 扁桃がん | 22% | 20% | 29% |
| p16(-) 扁桃がん | 6% | 10% | 11% |
| p16(+) 舌がん | 31% | 61% | 59% |
| p16(-) その他14例 | 24% | 31% | 33% |

TXT:ドセタキセル 数値は抑制率

(4) 同様に、手術時の検体から培養細胞株の樹立を試みたが、残念ながら樹立できなかった。徳島文理大学の細胞培養に実績のある教室に依頼し、培養をお願いしたがこちらも研究期間内に使用可能な細胞株の樹立には至らなかった。HPV感染が明らかな頭頸部がん細胞株が入手できなかったため、HPV感染が明らかな子宮頸がんの培養細胞株 Ca-ski を用いて、HPV感染のない頭頸部がん細胞株 HSC3 との比較試験を行った。ヌードマウス皮下にそれぞれの培養細胞を移植し、定着後に週1回のTXT腹腔内投与と1回4Gyの放射線照射を合計8回行った。その結果、下のグラフのごとく照射ならびに抗がん剤の投与による腫瘍増殖の抑制効果を認めたが、両者に有意な差を認めなかった。

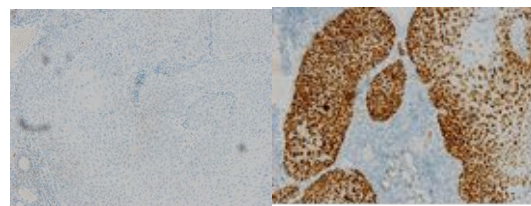


原発部位の違いから両者を直接比較することは困難ではあるが、今回の結果からは HPV

感染によって放射線や抗がん剤に対する感受性が高まっているとの結論は見いだせなかった。

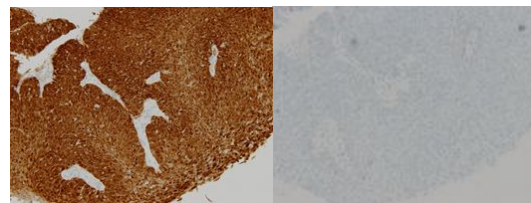
(5) p53 蛋白の発現は 50%以上を陽性とした場合の陽性率は p16 陽性例では 16%、p16 陰性例では 67%であった。Ki-67 に関しては p16 陽性、陰性でほとんど差を認めなかった。FDG-PET が施行できた 20 例で p16 の発現の有無と SUVmax の相関を検討すると、p16 陽性群は SUVmax の平均値が 12.5、陰性群 17.1 はと陽性群の方が FDG の集積が弱い傾向があったが有意差は認めなかった。FLT-PET に関しては、細胞の増殖能を反映するとされるためか、Ki-67 index と同様、p16 の発現の有無で差を認めなかった。

P16 陰性、p53 陽性症例



p16(-) p53(+)

p16 陽性、p53 陰性症例



p16(+) p53(-)

今回の検討で、有意な差は認めなかったものの、p16 陽性症例では p53 が少ない、治療前の PET 評価で SUVmax が低値である、など化学放射線治療が有効であることを事前に示唆する結果であった。今後、治療強度を変更するか否かに関しては p16 陽性細胞による詳細な検討を要する。本年 4 月以降、p16 陽性頭頸部癌培養細胞がコマーシャルベースで入手可能になるといった情報もあり、検討を進めたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

星川 広史 (Hoshikawa Hiroshi)
香川大学・医学部耳鼻咽喉科・准教授
研究者番号：70294767

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：