

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 10 月 13 日現在

機関番号：87102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592600

研究課題名(和文) 頭頸部癌が内包する脆弱性の探索と分子標的治療への応用

研究課題名(英文) Latent vulnerability of head and neck cancer-exploration and exploitation as a molecular target

研究代表者

益田 宗幸 (Masuda, Muneyuki)

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・その他

研究者番号：90284504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：1. The Cancer Genome Atlas (TCGA)の頭頸部癌組織のデータの解析をおこないSox2が頭頸部癌の多分化能誘導に重要な役割を果たしている事をみいだした。頭頸部癌培養細胞にSox2を強制発現させgenome-wideな解析を行う予備段階に入っている。

2. 九州がんセンターでchemoradioselection戦略に基づいて治療を行った標本を使用して固形癌の癌細胞のマーカーとして有用視されているCD44v9の発現と臨床病理学的因・予後との相関解析をおこない。CD44v9の発現が患者の予後を不良とする因子である事を頭頸部癌では世界ではじめて明らかにした(PlosOne)

研究成果の概要(英文)：1. Through the public data analyses of TCGA, we found that Sox2 is highly associated with the induction of pluripotency in head and neck cancer. We developed stable head and neck cancer cell lines, which stably overexpress Sox2 and are proceeding to the genome-wide analyses.

2. We evaluated the correlation between the expression of CD44v9, a promising cancer stem cell marker of solid tumors, and clinicopathological factors and prognosis using tumor samples obtained from patients who were treated with chemoradioselection strategy in the National Kyushu Cancer Center. It was clearly demonstrated that concurrent chemoradiation-induced CD44v9 expression was significantly associated with unfavorable prognosis of the patients (PlosOne). This is the first report that elucidated the prognostic value of CD44v9 in head and neck cancer.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：癌幹細胞 頭頸部癌 epigenetics

1. 研究開始当初の背景

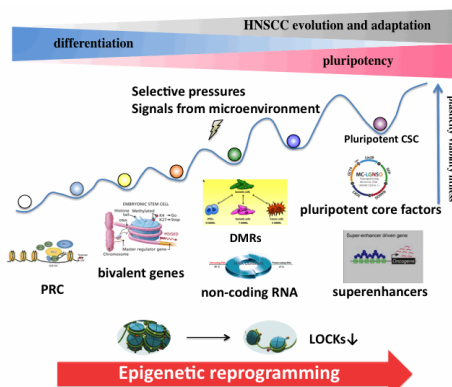
世界的にみると、頭頸部癌の発生頻度は全癌中6位を占めており、主要な癌腫の一つであるにも関わらず、この20-30年間、頭頸部癌患者の予後は向上していない。頭頸部癌の生物学的特性に根ざした治療法を開発することが急務である。

2. 研究の目的

恩師である I.B.Weinstein 教授は、**癌遺伝子中毒 (oncogene addiction)**” (*Science*:2002;297:63-4) の考え方により、**“癌の高度な適応能力と脆弱性は表裏一体である”**ことを明らかにし分子標的治療の理論的礎を築いた。本研究の目的は、この理論を頭頸部癌に適用し**“頭頸部癌に特異的な脆弱性を標的とする分子標的治療”**のモデルを構築することである

3. 研究の方法

2011年のscience誌の論文や現在解析中のThe Cancer Genome Atlas (TCGA)の結果から確認された様に頭頸部癌には major な oncogene の gain-of-function mutation がない。この結果を受けて我々は以下の様な仮説を構築した (Masuda M, et al., Somatic evolution of head and neck cancer - biological robustness and latent vulnerability. *Mol Oncol* 2013;7(1):14-2)。頭頸部癌は周囲環境からのストレスに反応し、適応・進化する複雑適応系 (complex adaptive system) である。2. 遺伝子発現の profile を reprogramming (malignant reprogramming) しながら進化のドライビングフォースを生み出す epigenetic な癌である。3. 適応進化の向かうベクトルは、最も過酷な環境下での生存増殖であり、より幼若で多分化能 (pluripotency) を有する細胞へと変化 = 胚性幹細胞 (ESC) 様の細胞への先祖がえり。4. 現在の癌の生物学的知見からすると多分化能を有する癌細胞 = 癌幹細胞 (CSC) と考えられる。5. iPS 細胞誘導のメカニズムと同様に癌細胞の malignant reprogramming には chromatin remodeling とタンパク質をコードしていない noncodingRNA が中心的な役割を果たす。

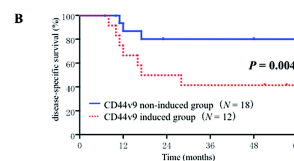
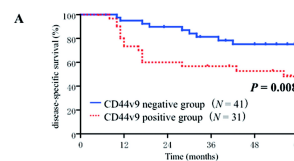


この仮説を実証するために以下の様な実験を推進した。

1. 頭頸部癌の進化における chromatin remodeling、noncodingRNA 機構の解明 : TCGA のデータ解析から頭頸部癌細胞の pluripotency の獲得には山中因子の中でも Sox が中心的役割を果たすと考えられる。頭頸部癌培養細胞に Sox の強制発現とサイレンシングの療法の実験を行い、microarray による noncodingRNA の発現実験をおこなって、有意に発現量が変化する RNA を同定する。次に臨床標本でこの RNA の発現量と予後の相関を解析する
2. 頭頸部癌幹細胞マーカーとしての CD44 variant の役割 : 頭頸部癌において CD44 standard form が CSC の marker とされてきたが様々な観点からその信頼性・特異性が疑問視されている。慶応大学先端医療センター佐谷教授の研究から CD44 standard form ではなくその splicing variant が頭頸部癌を含めたいくつかの固形癌で CSC の維持に重要な役割を果たすことが明らかになりつつある。佐谷教授との共同研究により九州がんセンターで治療を行った患者標本の CD44v9 の発現を解析し臨床病理学的因子・患者予後との相関を検討した。

4. 研究成果

1. 頭頸部癌培養細胞に Sox2 を強制発現させ genome-wide な解析を行う予備段階に入っている。
2. 九州がんセンターで chemoradioselction 戦略に基づいて治療を行った標本を使用して固形癌の癌細胞のマーカーとして有用視されている CD44v9 の発現と臨床病理学的因・予後との相関解析をおこない。CD44v9 の発現が患者の予後を不良とする



因子である事を頭頸部癌では世界ではじめて明らかにした (PlosOne)

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5件)

1. Aso T, Matsuo M, Kiyohara H, Taguchi K, Rikimaru F, Shimokawa M, Segawa Y, Higaki Y, Umeno H, Nakashima T, Masuda M. Induction of CD44 variant 9-expressing cancer stem cells might attenuate the efficacy of chemoradioselection and Worsens the prognosis of patients with advanced head and neck cancer. PLoS One 2015;10(3):e0116596.
2. Masuda M, Matsuo M, Aso T, Kiyohara H, Rikimaru F, Kunitake N, Higaki Y. Utility of algorithm-based chemoradioselection for the treatment of advanced hypopharyngeal carcinoma. Head and Neck 2014.
3. Hama T, Tokumaru Y, Fujii M, Yane K, Okami K, Kato K, Masuda M, Mineta H, Nakashima T, Sugawara M, Sakihama N, Yoshizaki T, Hanazawa T, Kato H, Hirano S, Imanishi Y, Kuratomi Y, Otsuki N, Ota I, Sugimoto T, Suzuki S. Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal cancer: a multicenter study in Japan. Oncology 2014;87(3):173-821.
4. Masuda M, Toh S, Wakasaki T, Suzui M, Joe AK. Somatic evolution of head and neck cancer - biological robustness and latent vulnerability. Mol Oncol 2013;7(1):14-28.
5. Nakashima T, Yasumatsu R, Masuda M, Clayman GL, Komune S. Prognostic value of cathepsin L and its inhibitor headpin in oral squamous cell carcinoma. J Laryngol Otol 2012;126(11):1134-7.

〔学会発表〕(計5件)

1. Masud M, Matsuo.M., Aso T, Kiyohara H, Rikimaru F, Kunitake N, Higaki Y. Roles of algorithm-based "chemoradioselection" for the treatment of advanced hypopharyngeal carcinoma. In:

5th World Congress of IFHOS & Annual Meeting of the AHNS; 2014 7/26-30; NY, USA

2. Masud M, Aso T, Matsuo.M., Rikimaru F, Taguchi K, Kunitake N, Higaki Y. Induction of CD44 variant 9-expressing cancer stem cells attenuates the efficacy of chemoradioselection and worsens the prognosis of patients with advanced and neck cancer. In: ESMO 2014 congress; 2014 9/26-30; Madrid, Spain
3. Aso T, Matsuo.M., Kiyohara H, Rikimaru F, Taguchi K, Higaki Y, Nakashima T, Saya H, Masud M. CD44 variant9 expressing cancer stem-like cells attenuate the efficacy of chemoradioselection in advanced head and neck cancer. In: 5th World Congress of IFHOS & Annual Meeting of the AHNS; 2014 7/26-30; NY, USA
4. Wakasaki T, Masud M, Komune S. Phenotypic analysis of cancer stem cell like cells derived from head and neck squamous cell carcinoma with matrigel and non-adherent culture method. In: 8th International Conference on Head and Neck Cancer; 2012 7/21-25; Toronto
5. 麻生丈一朗, 三橋泰仁, 宮本雄介, 清原英之, 松尾美央子, 力丸文秀, 檜垣雄一郎, 田口健一, 佐谷秀行, 益田宗幸. 頭頸部扁平上皮癌におけるCD44v9の発現と予後の検討. In: 第164回福岡県地方部会耳鼻咽喉科・頭頸部外科学術講演会; 2013 12/7; 福岡

〔図書〕(計1件)

1. 益田宗幸. 甲状腺癌と遺伝子変異. In: 吉崎智一, editor. ETONI 知っておきたい甲状腺診療－検査から専門治療まで－. 東京: 全日本病院出版会; 2014.

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

益田 宗幸 (MASUDA MUNYUKI)
九州癌センター・頭頸科部長
研究者番号：90284504

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

酒々井 真澄 (SUZUI MASUMI)
名古屋市立大学 大学院医学研究科
分子医学講座 分子毒性学分野 教授
研究者番号：30347158

若崎 高祐 (WAKASAKI TAKAHIRO)
九州大学医学研究員 研究員
研究者番号：10608871