

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791750

研究課題名(和文) 頭頸部扁平上皮癌における Docetaxel の感受性予測についての検討

研究課題名(英文) Prediction of response to Docetaxel in head and neck squamous cell carcinoma

研究代表者

小村 豪 (Omura, Go)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00601139

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：種々の条件において、下咽頭癌の治療前FFPE検体に対するCYP3A4の免疫染色の確立を試みたが、技術的な問題から条件設定は確立できなかった。そこで下咽頭癌手術症例に対し、接着斑キナーゼ(Focal Adhesion Kinase = FAK)が他癌において、予後や転移と関連があるとの報告があり、免疫染色学的検討を行なった。87症例に対し、45検体(52%)がFAK陽性で、陽性例は病理学的転移リンパ節が多い、再発出現率が高い、遠隔転移出現率が高い、予後不良であることがわかった。また、ウエスタンブロット法にて、陽性例でタンパク発現が亢進していることを確認した。

研究成果の概要(英文)：We could not evaluate the CYP3A4 expression for hypopharyngeal cancer (HPC) treated with induction TPF regimen, because of technical problem. Therefore, we changed the contents of this study. Focal adhesion kinase (FAK) plays an important role in tumor metastasis. We evaluated the significance of FAK expression in surgically treated HPC patients. FAK expression status was retrospectively evaluated using immunohistochemistry. FAK-positive patients displayed significantly worse disease-specific survival than FAK-negative patients. Furthermore, FAK positivity significantly correlated with the number of metastatic lymph nodes, and FAK-positive patients displayed a higher incidence of distant metastases. In conclusion, upregulated FAK expression correlates with poor prognosis and tumor dissemination in surgically treated HPC patients.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：下咽頭癌 予後因子 Focal Adhesion Kinase

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトパピローマウイルス非関連頭頸部扁平上皮癌は、飲酒歴のあるAldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) 欠損者が罹患しやすく、欧米に比べてALDH2欠損比率が多い東アジア人において罹患率が高い。中でも下咽頭は頸部に至る豊富なリンパ流を有し、頭頸部領域悪性腫瘍において最も予後不良な癌の一つである。また、隣接する喉頭は嚥下・発声などのQOLに深く関わるため、治療は単に予後改善を求めのみでなく、可能な限り喉頭機能の温存も要求される。この為、手術・放射線・抗癌剤による集学的治療が行われてきた。

## 2. 研究の目的

ここ5年から10年の間での頭頸部癌治療に於ける paradigm shift としては TPF3 剤併用による導入化学療法や手術支援ロボットもしくは内視鏡併用での経口的アプローチ切除による低手術等が挙げられる。

切除可能進行頭頸部扁平上皮癌において、従来のシスプラチン+5FU を用いた導入化学療法(PF療法)とそれに Docetaxel(TXT)を加えた TPF 療法の比較第三相試験が TAX324 試験として行われた。これによると TPF 療法は PF 療法と比較して生存率の改善を認めた (NEJM 2007、Lancet Oncol 2011)。

一方で、ここ数年手術支援ロボットや内視鏡の進歩による経口的切除法を含め、手術治療の重要性が再評価されている。また、高齢化社会に伴って頭頸部癌発症年齢も高齢化している現在、高齢あるいは併存症を有するために化学療法不耐の症例には、やはり手術療法が必要不可欠である。昨今の経口的切除の進歩や、放射線治療の晩期障害や二次癌への懸念から一時期盛んであった化学放射線からここ数年は再度手術治療へのより戻しの時期と考えている。そこで適切な手術症例への振り分けとして、Focal Adhesion Kinase(接着斑キナーゼ=FAK)に注目している。他癌において、予後や転移と関連があるとの報告が複数ある。

これら多岐に渡る治療の選択肢を適切に選択するには、従来の TNM 分類や病理組織診断学に基づいた治療体系以外にも、ゲノム異常を初めとする発癌メカニズムの解明によって治療標的分子あるいはバイオマーカーを同定し、治療方針の決定因子および治療標的そのものに結びつける戦略が必要であると考えられる。

## 3. 研究の方法

当初はまず2008年TPF療法導入後、同治療を行った下咽頭癌患者より治療開始前に組織採取を行い、CYP3A4の免疫染色及びReal-time RT-PCR法によるmRNA発現の定量化を行う予定であった。

途中下咽頭癌手術症例に於けるFAKの発現と予後についての検討に変更したのちは、2004年-2012年に当科で治療した87症例の下咽頭癌手術検体のホルマリン固定切片を用い、anti-FAK monoclonal antibody clone 4.47 (Millipore)を一次抗体として、過去の報告 (Br J Cancer, 2003) に準じて、癌細胞の40%以上で細胞質が染色される症例をFAK陽性と判定した。また、ウエスタンブロット法で、陽性例と陰性例の代表症例の凍結切片を用い、陽性例でタンパク発現が更新していることを確認した。

## 4. 研究成果

進行下咽頭癌に対しTPF(療法を導入化学療法として行った症例で、治療前のパラフィン埋包標本を入手可能であった27症例に対し、ウサ抗ヒトCYP3A4ポリクローナル抗体 ab1254(CHEMICON International)、及びab3572(abcam)を用いて通常のABC法を用いて免疫染色を行った。各々について賦活化処理、一次抗体の希釈条件等を変更して反応を試みたが、発色は得られなかった。耳鼻科処置用ファイバー鉗子での生検検体からの検体量かが不足している可能性も考えられた。このため次に導入化学療法無効例に対し、根治手術を行った8例についても切除切片を用いて、同様の行程を行ったが、同様に発色は得られなかった。次に同検体でCSAII法を行い、全例発色は得られたが、同行程を再度27例の生検検体で施行したが、組織辺縁が強く発色しすぎてしまい、CYP3A4発現の程度の差を見るには困難と考えられた。またTPF療法導入後、当治療を行った39例中のPR以上の奏功率は82%と大半の症例で奏功しており、奏功率の差を見るには症例数が少なく、研究内容の変更を余儀なくされた。

次に2004年以降当院で治療した下咽頭癌手術例について免疫染色学的検討を行なうこととした。45検体(52%)でFAK陽性の結果となり、陽性例は陰性例と比較し、有意

に①病理学的転移リンパ節が多い (p=0.048)、②再発出現率が高い(p<0.0001)、③遠隔転移出現率が高い(p=0.009)、④予後不良(p<0.0001)であることがわかった。(図1)

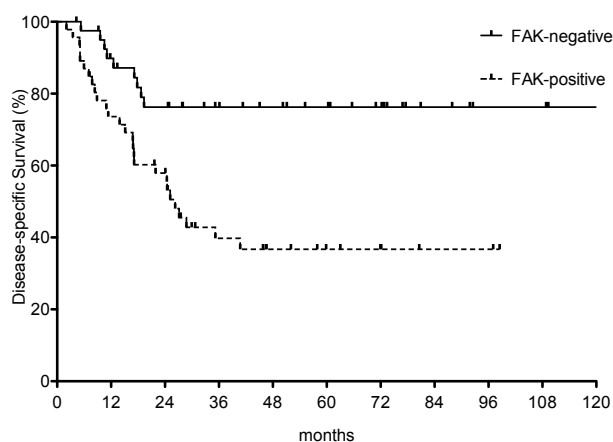


図 1a:FAK 陽性例は予後不良

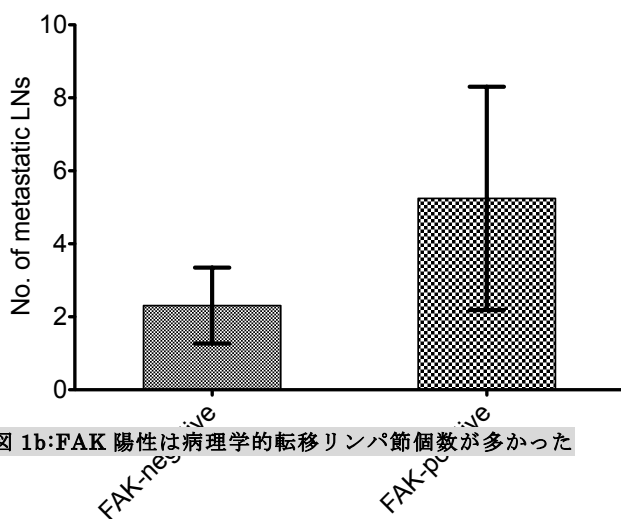


図 1b:FAK 陽性は病理学的転移リンパ節個数が多かった

また、ウェスタンブロット法で、陽性例と陰性例の代表症例の凍結切片を用い、陽性例でタンパク発現が更新していることを確認した。(図2)

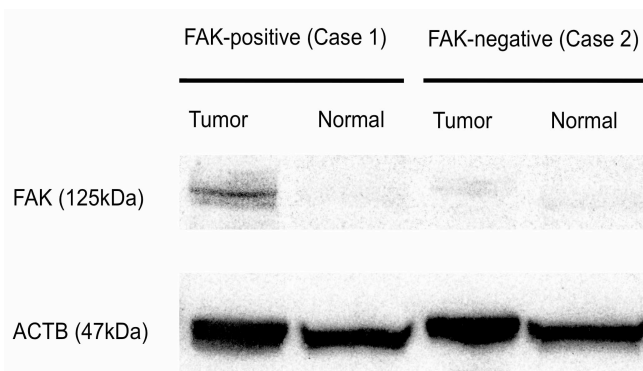


図 2:ウェスタンブロット法

## 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 10 件)

- Comorbidities as Predictor Poor Prognosis for Advanced Head and Neck Cancer Patients Treated with Major Surgery. Omura G, Ando M, Saito Y, Kobayashi K, Yamasoba T, Asakage T. *Head Neck in press* (査読あり)
- Disease control and clinicopathological prognostic factors of total pharyngolaryngectomy for hypopharyngeal cancer: a single-center study. Omura G, Ando M, Saito Y, Kobayashi K, Yamasoba T, Asakage T. *Int J Clin Oncol* 2015; 20 290-297(査読あり)
- Salvage surgery for local residual or recurrent pharyngeal cancer after radiotherapy or chemoradiotherapy. Omura G, Saito Y, Ando M, Kobayashi K, Ebihara Y, Yamasoba T, Asakage T. *Laryngoscope* 2014; 124 2075-2080 (査読あり)
- Clinical Features of Human Papilloma Virus-Related Head and Neck Squamous Cell Carcinoma of an Unknown Primary Site. Kobayashi K, Saito Y, Omura G, Ando M, Sakamoto T, Yamasoba T, Asakage T. *ORL*. 2014; 76 137-146 (査読あり)
- Negative Human Papillomavirus Status and Excessive Alcohol Consumption are Significant Risk Factors for Second Primary Malignancies in Japanese Patients with Oropharyngeal Carcinoma. Saito Y, Ebihara Y, Ushiku T, Omura G, Yamasoba T, Asakage T. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2014; 44 564-569 (査読あり)
- Prognostic value of p16 expression and alcohol consumption in Japanese patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma. Saito Y, Yoshida M, Ushiku T, Omura G, Yamasoba T, Asakage T. *Cancer*. 2013; 119 2005-2011 (査読あり)
- 中咽頭癌放射線治療後局所再発・残存に対する救済手術例の検討. 小村 豪、小林 謙也、齊藤 祐毅、蝦原 康宏、朝蔭 孝宏、山嵜 達也. *頭頸部外科*

2013:23(3)343-348 (査読あり)

8. 下咽頭癌放射線治療後局所再発・残存に対する救済手術例の検討. 小村 豪、齊藤 祐毅, 吉田 昌史, 安藤 瑞生, 蝦原 康宏, 朝蔭 孝宏. 頭頸部癌 2013:39(1)55-59 (査読あり)
9. Maxillary carcinosarcoma: Identification of a novel MET mutation in both carcinomatous and sarcomatous components through next generation sequencing. Ando M, Saito Y, Morikawa T, Omura G, Yamasoba T, Asakage T. Head Neck in press (査読あり)
10. High Incidence of Null-Type Mutations of the TP53 Gene in Japanese Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Ebihara Y, Iwai M, Akashi K, Ito T, Omura G, Ando M, Asakage T, Yamasoba T, Murakami Y. Journal of Cancer Therapy 2014: 5 664-671

[学会発表](計 8 件)

1. 当院に於ける中下咽頭喉頭癌に対する先行頸部郭清術施行例の治療成績: 第 115 回日本耳鼻咽喉科学会総会
2. 下咽頭癌切除症例における Focal Adhesion Kinase(FAK)発現と再発出現率及び予後の検討: 第 38 回日本頭頸部癌学会
3. 甲状腺半切を併施した喉頭全摘・咽喉食摘術症例の術後甲状腺機能について: 第 25 回日本頭頸部外科学会
4. 下咽頭癌咽喉食摘術症例の予後因子についての検討: 第 37 回日本頭頸部癌学会
5. 進行頭頸部癌手術例の予後と併存症の関連性の検討 -Adult Comorbidity Evaluation 27 (ACE-27)を用いて: 第 24 回日本頭頸部外科学会
6. Salvage surgery for locally recurrent pharyngeal squamous cell carcinoma after definitive radiotherapy or chemoradiotherapy: AAO-HNSF
7. 下咽頭癌放射線治療後原発巣再発・残存に対する救済手術例の検討: 第 36 回日本頭頸部癌学会
8. 中咽頭癌放射線治療後原発巣再発・残存に対する救済手術例の検討: 第 23 回日本頭頸部外科学会

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

[その他]なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

小村 豪 (OMURA Go)

東京大学医学部附属病院助教

研究者番号:00601139

### (2)研究分担者

( )

研究者番号:

### (3)連携研究者

( )

研究者番号: