

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463120

研究課題名(和文) 口腔扁平上皮癌における真に有用な分子標的薬耐性マーカーの開発

研究課題名(英文) Development of Effective Markers for Resistance of Oral Squamous Cell Carcinoma to Molecular-targeting Drugs

研究代表者

山崎 浩史 (YAMAZAKI, Hiroshi)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：00338708

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平上皮癌(OSCC)における分子標的薬セツキシマブ(C-mab)の効果予測を確立することを目的とした。まずOSCC細胞株および臨床標本のC-mabに対する感受性を検討した。各細胞株によって感受性は異なっていた。臨床標本での感受性は30%であった。感受性が異なる原因として、変異型EGFRの存在が指摘されている。変異型EGFRの発現について手術標本を対象とし検討した。野生型は全例陽性、変異型は12.5%陽性であった。この結果から変異型EGFR以外の治療抵抗因子の存在が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to establish a method for estimating the efficacy of the molecular-targeting agent cetuximab (C-mab) for oral squamous cell carcinoma (OSCC). First, the sensitivity of OSCC cell lines and clinical specimens to C-mab was investigated. The sensitivity varied among cell lines, while 30% of the clinical specimens showed sensitivity. It has been reported that variations of the EGFR cause differences in sensitivity. Accordingly, surgical specimens were investigated for the expression of variant EGFR. As a result, the positivity rate was 100% and 12.5% for the wild-type and variant EGFR, respectively. These results suggest that there are other factors related to resistance in addition to EGFR variations.

研究分野：医歯薬学

キーワード：外科系歯学 臨床腫瘍学 口腔癌

1. 研究開始当初の背景

上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR) は、HER-1 としても知られる膜貫通性糖タンパクである。この EGFR は頭頸部扁平上皮癌の 90%以上で発現しており重要な標的の1つである。前癌病変から浸潤癌に移行するに伴って EGFR の発現が上昇することも報告されている。EGFR の過剰発現は、腫瘍サイズの増大、病期の進行、再発のリスク増加、放射線低感受性、予後不良にも関与している。以上の理由から、EGFR は頭頸部癌治療のターゲットとなっている。セツキシマブ (Cetuximab: Cmax) はこの EGFR に結合することにより細胞増殖を阻害し細胞死を誘導する抗 EGFR キメラ抗体の1つである。現状では生存への上乗せ効果を示した EGFR 阻害剤は Cmax のみである。2006 年に stage / の局所進行扁平上皮癌を対象に放射線療法 (RT) に Cmax を上乗せする意義を検証した第 相試験の結果が報告され、Cmax の放射線療法に対する生存への上乗せ効果が示された。しかし従来の標準治療である同時化学放射線療法 (Cisplatin+RT) と Cmax+RT の生存期間に明らかな差は認められていない。このような大規模臨床試験の結果において EGFR を発現しているにもかかわらず、Cmax に対する responder と non-responder が存在することが明らかになった。そこで、Cmax responder を治療開始前に抽出し、選択的に Cmax を併用することが可能になれば、治療成績の向上につながり、Cisplatin などの毒性の強い薬剤を回避することが可能となる。逆に Cmax non-responder に対しては高価な薬剤を使用しないで済むことになり医療費削減にもつながる。抗 EGFR 抗体は EGFR が高発現している症例にのみ用いられるのが前提であるが、頭頸部癌では EGFR が 90%以上も発現しており、したがって EGFR は有用な効果予測因子とはいえない。大腸癌では K-ras の遺伝子変異を有している

患者は、野生型の患者と比べて、Cmax などの EGFR 阻害剤の治療の上乗せ効果はないことが示されている。大腸癌では、この遺伝子変異の頻度がおよそ 40%程度と報告されており、治療前にその変異を検索することが推奨されている。しかし、頭頸部癌における K-ras 遺伝子変異は、5%未満と報告されており、K-ras の遺伝子変異を治療前に測定する意義はないと認識されている。したがって、現在のところ真に有用な効果予測因子・薬剤耐性マーカーは存在せず、これを発見することはきわめて重要であると考えられる。

2. 研究の目的

類似した組織型を呈する口腔扁平上皮癌 (Oral Squamous Cell Carcinoma: OSCC) においても各種分子の発現強度は異なり、予後が必ずしも一致せず、EGFR の発現においても同様であることが明らかになっている。そこで、進行 OSCC 症例に対して抗癌剤・分子標的薬に対する感受性を評価する。進行 OSCC に対する抗癌剤・分子標的治療における、真に有用な効果予測因子・薬剤耐性マーカーを発見する。

3. 研究の方法

(1) 分子標的薬感受性試験システムの構築

抗癌剤感受性試験システムを応用し分子標的薬感受性試験システムを構築し、OSCC に対する Cmax の感受性試験を行う。CD-DST 法 (Collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test 法) により抗癌剤および Cmax に対する感受性群・抵抗性群に分類する。

(2) 分子標的薬感受性に関連する遺伝子・分子群の解明

まず、Cmax 耐性 OSCC 細胞株を樹立する。これを用いて、遺伝子の網羅的解析により、分子標的薬に対する感受性の有無と関連する遺伝子・分子群を同定する。マイクロアレイ

や PCR 法を用いて OSCC の分子標的薬と抗癌剤に対する感受性や耐性を示す遺伝子や分子の発現を検討する。EGF シグナルの下流遺伝子の変異も多様性が存在することが報告されており、EGF シグナル関連分子の発現、EGFR タンパク発現、CD-DST 法による有効性などとのゲノムレベルの検索を行う。

4. 研究成果

(1)分子標的薬感受性試験システムの構築

進行 OSCC に対する CD-DST 法による薬剤感受性試験システムを確立し、すでに 50 症例以上のヒト癌細胞初代培養を行い、臨床検体での各種抗癌剤や分子標的薬 Cmab の感受性を検討することを可能にした。

現在までのCD-DST法の結果

	CDDP T/C(%)	5-FU T/C(%)	FP T/C(%)	DOC T/C(%)	TPF T/C(%)	T/c値(%) 50%以下 高感受性 Cmab接触 50ug/ml 24hrs 250ug/ml 144hrs	
						Cmab (50ug/ x24hr) T/C(%)	Cmab (250ug/ X144hr) T/C(%)
有効データ数	27	27	22	21	25	20	10
高感受性数	8	9	10	7	11	3	7
高感受性率	8/27 (29.6%)	9/27 (33.3%)	10/22 (45.5%)	7/21 (33.3%)	11/25 (44.0%)	3/20 (15.0%)	7/10 (70.0%)
臨床試験 有効率	25.8%	40%	54%	20.6%	68%	13%	-

臨床試験の有効率に近似していた

(2)分子標的薬感受性に関連する遺伝子・分子群の解明

Cmab 耐性の原因として注目されている変異型 EGFR である EGFRv の発現を qRT-PCR によって確認した。OSCC 96 症例のうち 12 症例 (12.5%) が EGFRv を発現していた。また、Cmab 耐性 OSCC 株の樹立し、マイクロアレイ解析により、EGFR のリガンドの 1 つであるアンフィレギュリン (AREG) の低発現を確認した。

今後は、OSCC に対する分子標的薬 Cmab 治療における効果予測因子・薬剤耐性マーカーとして EGFRv や AREG が有用であるかを評価し、さらに有用な新規バイオマーカーを確立する目的のため研究を継続する。

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5件)

新井俊弘、太田嘉英、青山謙一、齋藤寛一、傳田祐也、山崎浩史、青木隆幸、金子明寛、口腔癌に対する cisplatin を含む化学療法による低ナトリウム血症の臨床的検討 頭頸部癌、査読有、40 巻、2014、38-42

Sakamoto Y, Takahara T, Ota Y, Aoki T, Yamazaki H, Otsuru M, Takahashi M, Aoyama K, Kaneko A, Kawada S, Ichikawa T, Imagawa K, Miyasaka M, MRI analysis of chronological changes in free-flap volume in head and neck reconstruction by volumetry. Tokai J Exp Clin Med, 査読有, 39(1), 2014, 44-50

大鶴光信、太田嘉英、青木隆幸、山崎浩史、新井俊弘、鈴木崇嗣、傳田祐也、齋藤寛一、金子明寛、口腔扁平上皮癌術後ハイリスク群における 3 週毎シスプラチンを用いた化学放射線療法の検討、日本口腔腫瘍学会誌、査読有、25(1)、2013、1-6

Yamazaki H, Mori T, Yazawa M, Maeshima AM, Matsumoto F, Yoshimoto S, Ota Y, Kaneko A, Tsuda H, Kanai Y, Stem cell self-renewal factors Bmi1 and HMGA2 in head and neck squamous cell carcinoma: clues for diagnosis. Lab Invest, 査読有, 93(12), 2013, 1331-8

DOI: 10.1038/labinvest.2013.120

Yamazaki H, Ota Y, Aoki T, Kaneko A, Lung metastases of epithelial-myoeipithelial carcinoma of the parotid gland successfully treated with chemotherapy: a case report. J Oral Maxillofac Surg, 査読有, 71(1), 2013,

220-6

DOI: 10.1016/j.joms.2012.03.031

〔学会発表〕(計1件)

山崎浩史、第60回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会 口腔扁平上皮癌における EGFRvariant の発現に関する検討 2-P4.1-2、2015年10月17日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

〔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〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山崎 浩史 (YAMAZAKI, Hiroshi)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号: 00338708

(2) 研究分担者

森 泰昌 (MORI, Taisuke)

国立がん研究センター・中央病院病理臨床

検査部・医員

研究者番号: 00296708