

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462591

研究課題名(和文) バイオインフォマティクスアプローチによる頭頸部癌のシグナル伝達ネットワークの解明

研究課題名(英文) Elucidation of signaling network of head and neck cancer by bioinformatics approach

研究代表者

畠山 博充 (Hatakeyama, Hiromitsu)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：10455652

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：我々が行った500例の代表的な癌遺伝子の解析結果では、頭頸部癌の治療方針に影響を与えるような遺伝子発現変化を同定することはできなかった。
TNM分類以外の重要な予後予測因子にはヒト乳頭腫ウイルス(HPV)感染の有無がある。一般に癌は低分化になるほど悪性度が高くなり、それに相関して予後も悪化すると考えられる。しかし低分化のHPV陽性癌の予後が良いのは逆説的である。そこで我々は分化度が低下するにつれて上皮間葉転換が進むことに注目し、上皮系、間葉系のマーカーの発現をそれぞれの群で検討した。その発現にheterogeneityが見られた症例の予後は不良で、HPV陽性ではhomogeneousであった。

研究成果の概要(英文)：We performed gene analysis in the 500 cases with head and neck cancer to identify mutation and expression that could be the marker of treatment strategies and treatment targets for head and neck cancer.
An important prognostic factor other than TNM classification is the presence or absence of human papillomavirus (HPV) infection. In general, cancer becomes more malignant as the differentiation progresses, and the prognosis is also worsened in correlation with it. We focused on the progress of epithelial-to-mesenchymal transition as the degree of differentiation declined and the prognosis of cases in which expression of epithelial and mesenchymal markers was examined in each group. The prognosis of patients who have heterogeneity in EMT marker expression were poor. Intra-tumor heterogeneity is low in the surgical samples with HPV positive.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：頭頸部癌 バイオインフォマティクス シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

分子生物学の発展に伴い、新たな臨床的ブレイクスルーとして分子標的治療が注目され各種癌においてその有効性が明らかとなってきた。頭頸部癌においては、すでに上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR) をターゲットとした治療が保険認可され、効果を上げている。しかし**治療効果には個人差があり、従来の抗腫瘍薬同様に治療当初は感受性を示すものの、徐々に耐性化する症例がある**こともわかってきた。肺癌においては EGFR の mutation の有無が分子標的治療の感受性に関わることが報告されたが、**頭頸部癌においてはこれらの遺伝子変化はまれであり、症例選択における重要な因子とはならない**ことが我々の研究から明らかになっている。

当研究者による網羅的トランスクリプトーム解析による多種類の頭頸部癌細胞株を用いた研究では Cetuximab に感受性を示す頭頸部癌細胞株は EGFR の発現が高く、de novo で耐性をもつ細胞株は EGFR パスウェイ以外のシグナル伝達機構にその増殖がよっていることが分かった。種癌細胞においては、多数の細胞増殖に関連するシグナル伝達パスウェイが発見され、それに対応した分子標的薬が開発されている。また各パスウェイは互いを相補するように働き、上皮間葉移行に伴うパスウェイの転換は分子標的治療の耐性機構の原因となることがわかってきた。**頭頸部扁平上皮癌症例においても分子標的治療効果の偏りと耐性化の原因としてこのパスウェイの相補と転換が関与していることは明らかである。**本研究では**従来培ったバイオインフォマティクス技術を駆使して、トランスクリプトーム、エクソーム、およびプロテオーム解析技術を導入してその頭頸部癌シグナル伝達ネットワーク解析を行う。**これによりシグナル伝達に基づいた頭頸部癌増殖、薬剤耐性に関する極めて有用な基礎的情報を提供するとともに、**従来の TNM 分類だけによることのない個々人に最も適した治療の施行と、更には遠隔転移を有する症例の根治治療**が可能となり、さらなる治療成績の向

上が期待される。

2. 研究の目的

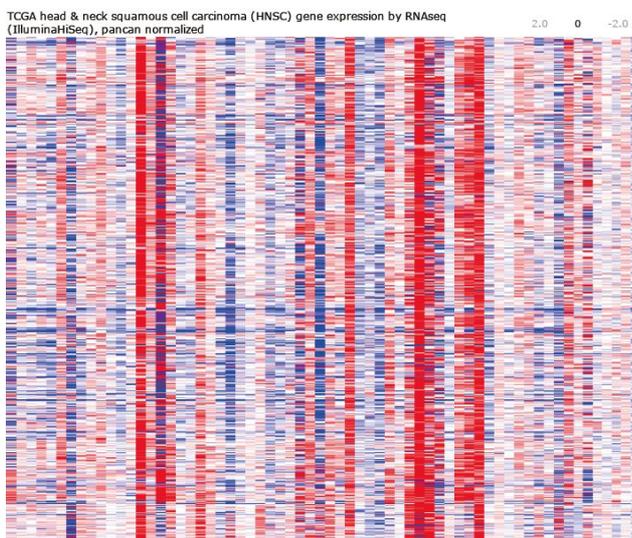
各種癌においてその増殖に関わるシグナル伝達機構が徐々に明らかとなり、そのパスウェイの制御が癌治療に応用されて各シグナル系に応じた分子標的薬が開発されてきている。これまでも我々はゲノム・プロテオーム解析を軸にしたバイオインフォマティクス技術を駆使して、上皮間葉移行に対応した癌増殖シグナル伝達およびそのシグナル伝達系相互のクロストークに関連した分子群を同定してきた。今回はさらに遠隔転移に関連する血中循環腫瘍細胞の遺伝子解析を加え、原発部位との遺伝子変化を追う。これらをマーカーとすることで個々の症例に応じた分子標的薬の選定が可能となるだけでなく、遠隔転移を起こす分子のシグナル伝達のメカニズムを制御する新たな治療標的の発見が期待できる。

3. 研究の方法

臨床経過が明らかな 100 例程度の頭頸部癌臨床検体をサンプルとしてトランスクリプトームおよびプロテオーム解析により分子発現の数値化を行う。すでにリストアップされた各種増殖シグナル伝達に関連する当該分子群に層別化し、また治療効果や予後等との相関関係にある分子群をバイオインフォマティクスアプローチによる統計学的処理により同定する。同定された分子はトランスフェクションもしくはノックダウンによりパスウェイの活性化・不活性化といったシグナル伝達への影響を検討し、さらにはシグナル伝達阻害剤に対する感受性の変化や、モノクローナル抗体を作成して新たな分子標的治療薬の開発を試みる。

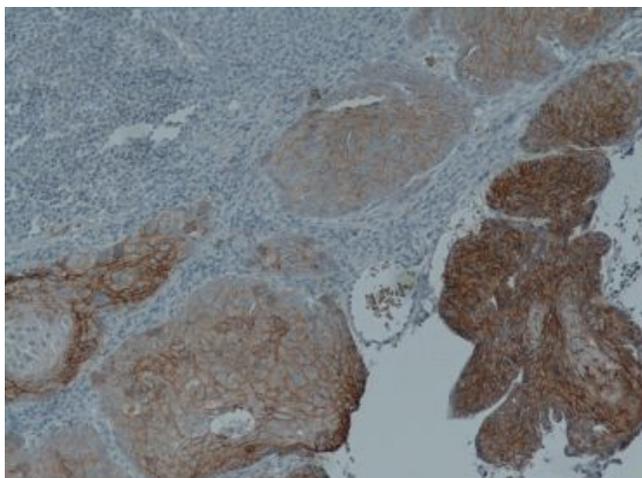
4. 研究成果

下図は**我々が行った 500 例の代表的な癌遺伝子の解析結果**であるが、頭頸部癌の治療方針に影響を与えるような遺伝子発現変化を同定することはできなかった。



500 症例での主な癌関連遺伝子の発現
頭頸部癌学会 2016

TNM 分類以外の重要な予後予測因子にはヒト乳頭腫ウイルス(Human Papilloma Virus: HPV)感染の有無が挙げられる。HPV 陽性中咽頭扁平上皮癌は陰性癌にくらべ、低分化であることが多い。一般に癌は低分化になるほど悪性度が高くなり、それに相関して予後も悪化すると考えられる。しかし低分化の HPV 陽性癌の予後が良いのは逆説的である。そこで我々は分化度が低下するにつれて上皮間葉転換が進むことに注目し、上皮系、間葉系のマーカーの発現をそれぞれの群で検討した。HPV 陽性癌で上皮間葉転換を認めたのは 13%だったが、HPV 陰性癌においては 35%に間葉転換と考えるべき部分的な E-cadherin 発現の低下を認め、発現に heterogeneity が見られた症例の予後は不良であった。(下図)。



同一の癌組織に於いても癌蜂巣によって E-cadherin の発現が異なる

Oncology Reports, 2014,筆者等

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 22 件)

1. The role of prophylactic neck dissection and tumor thickness evaluation for patients with cN0 tongue squamous cell carcinoma. /Tsushima N, Sakashita T, Homma A, Hatakeyama H, Kano S, Mizumachi T, Kakizaki T, Suzuki T, Fukuda S. 4/9. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016;273:3987-3992. 査読有
2. Effectiveness of superselective intra-arterial chemoradiotherapy targeting retropharyngeal lymph node metastasis. /Suzuki T, Sakashita T, Homma A, Hatakeyama H, Kano S, Mizumachi T, Yoshida D, Fujima N, Onimaru R, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Suzuki F, Fukuda S. 4/14. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016;273:3331-3336. 査読有
3. Expression of p53, p16, cyclin D1, epidermal growth factor receptor and Notch1 in patients with temporal bone squamous cell carcinoma. /Morita S, Nakamaru Y, Homma A, Yasukawa S, Hatakeyama H, Sakashita T, Kano S, Fukuda A, Fukuda S. 5/9. Int J Clin Oncol. 2016;21:[Epub ahead of print]. 査読有
4. The outcomes of surgery and chemoradiotherapy for temporal bone cancer. /Morita S, Homma A, Nakamaru Y, Sakashita T, Hatakeyama H, Kano S, Fukuda A, Fukuda S. 5/8. Otology & Neurotology. 2016;37:1174-1182. 査読有
5. The role of MicroRNA-296-3p in the malignant transformation of sinonasal inverted papilloma. Hatakeyama H Kakizaki T, Nakamaru Y, Takagi D, Suzuki M, Mizumachi T, Sakashita T, Kano S, Homma A, Fukuda S. 3/10. Oncology Letters. 2016 ;in press. 査読

- 有
6. A retrospective study of G-tube use in Japanese patients treated with concurrent chemoradiotherapy for hypopharyngeal cancer. /[Homma A](#), [Hatakeyama H](#), Mizumachi T, Kano S, Sakashita T, Kuramoto R, Nakamaru Y, Onimaru R, Tsuchiya K, Yoshida D, Yasuda K, Shirato H, Fukuda S. 2/13. PLoS One. 2016;11:e0161734. doi: 0161710.0161371. 査読有
 7. Indications for superselective intra-arterial cisplatin infusion and concomitant radiotherapy in cases of hypopharyngeal cancer. /Furusawa J, [Homma A](#), Onimaru R, Sakashita T, Yoshida D, [Hatakeyama H](#), Mizumachi T, Kano S, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Fukuda S. 6/12. Auris Nasus Larynx. 2015;42:443-448. 査読有
 8. Hangeshashinto improves the completion rate of chemoradiotherapy and the nutritional status in patients with head and neck cancer. /[Hatakeyama H](#), Takahashi H, Oridate N, Kuramoto R, Fujiwara K, [Homma A](#), Takeda H, Fukuda S. 1/8. (ア) ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2015;77:100-108. 査読有
 9. Early and long-term morbidity after minimally invasive total laryngo-pharyngo-esophagectomy with gastric pull-up reconstruction via thoracoscopy, laparoscopy and cervical incision. /[Homma A](#), Nakamaru Y, [Hatakeyama H](#), Mizumachi T, Kano S, Furusawa J, Sakashita T, Shichinohe T, Ebihara Y, Hirano S, Furukawa H, Hayashi T, Yamamoto Y, Fukuda S. 3/14. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2015;272:3551-3556. 査読有
 10. Management for squamous cell carcinoma of the nasal cavity and ethmoid sinus: A single institution experience. /[Homma A](#), Nakamaru Y, Sakashita T, Onimaru R, Terasaka S, Tsuchiya K, Yoshida D, Yasuda K, [Hatakeyama H](#), Furusawa J, Mizumachi T, Kano S, Shirato H, Fukuda S. 9/14. Auris Nasus Larynx. 2015;42:377-381. 査読有
 11. The efficacy of superselective intra-arterial infusion with concomitant radiotherapy for adenoid cystic carcinoma of the head and neck. /[Homma A](#), Sakashita T, [Hatakeyama H](#), Kano S, Mizumachi T, Nakamaru Y, Yoshida D, Onimaru R, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Fukuda S. 3/12. Acta Otolaryngol. 2015;135:950-954. 査読有
 12. Feasibility and efficacy of induction docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil chemotherapy combined with concurrent weekly cisplatin chemoradiotherapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinoma. /Mizumachi T, [Homma A](#), Kakizaki T, Sakashita T, Kano S, [Hatakeyama H](#), Tsuchiya K, Yasuda K, Onimaru R, Shirato H, Taguchi J, Shimizu Y, Kinoshita I, Akita H, Fukuda S. 6/15. Int J Clin Oncol. 2015;20:431-437. 査読有
 13. Olfactory neuroblastoma: the long-term outcome and late toxicity of multimodal therapy including radiotherapy based on treatment planning using computed tomography. /Mori T, Onimaru R, Onodera S, Tsuchiya K, Yasuda K, [Hatakeyama H](#), Kobayashi H, Terasaka S, [Homma A](#), Shirato H. 6/10. Radiat Oncol. 2015;doi: 10.1186/s13014-015-0397-5. 査読有
 14. Comparison of hearing outcomes after treatment for early stage external auditory canal cancer. /Morita S, Nakamaru Y, [Homma A](#), Sakashita T, [Hatakeyama H](#), Masuya M, Fukuda S. 5/7. Head Neck. 2015;38:E1110-E1116. 査読有
 15. Clinical outcomes of weekly cisplatin chemoradiotherapy for patients with pyriform sinus cancer. /Sakashita T,

- Homma A, Hatakeyama H, Furusawa J, Kano S, Mizumachi T, Iizuka S, Onimaru R, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Fukuda S. 3/12. *Int J Clin Oncol*. 2015;20:1081-1085. 査読有
16. Comparison of acute toxicities associated with cetuximab-based bioradiotherapy and platinum-based chemoradiotherapy for head and neck squamous cell carcinomas: A single-institution retrospective study in Japan. Sakashita T, Homma A, Hatakeyama H, Furusawa J, Kano S, Mizumachi T, Iizuka S, Onimaru R, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Fukuda S. 3/12. *Acta Otolaryngol*. 2015;135:853-858. 査読有
17. Voice Onset Time for the World-Initial Voiceless Consonant /t/ in Japanese Spasmodic Dysphonia-A Comparison With Normal Controls. /Yanagida S, Nishizawa N, Mizoguchi K, Hatakeyama H, Fukuda S. 4/5. *J Voice*. 2015;29:450-454. 査読有
18. High level expression of AMAP1 protein correlates with poor prognosis and survival after surgery of head and neck squamous cell carcinoma patients. /Sato H, Hatanaka KC, Hatanaka Y, Hatakeyama H, Hashimoto A, Matsuno Y, Fukuda S, Sabe H. 4/8. *Cell Commun Signal*. 2014;12:doi: 10.1186/1478-1811X-1112-1117. 査読有
19. The potential diagnostic role of the number of ultrasonographic characteristics for patients with thyroid nodules evaluated as Bethesda I-V. /Sakashita T, Homma A, Hatakeyama H, Mizumachi T, Kano S, Furusawa J, Iizuka S, Hoshino K, Hatanaka KC, Oba K, Fukuda S. 3/11. *Front Oncol*. 2014;doi: 10.3389/fonc.2014.00261. 査読有
20. Salvage operations for patients with persistent or recurrent cancer of the maxillary sinus after superselective intra-arterial infusion of cisplatin with concurrent radiotherapy. /Sakashita T, Homma A, Hatakeyama H, Kano S, Mizumachi T, Furusawa J, Yoshida D, Fujima N, Onimaru R, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Suzuki F, Fukuda S. 3/14. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2014;52:323-328. 査読有
21. The incidence of late neck recurrence in N0 maxillary sinus squamous cell carcinomas after superselective intra-arterial chemoradiotherapy without prophylactic neck irradiation. /Sakashita T, Homma A, Hatakeyama H, Kano S, Mizumachi T, Furusawa J, Yoshida D, Fujima N, Onimaru R, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Fukuda S.3/13. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014;271:2767-2770. 査読有
22. Epithelial-mesenchymal transition in human papillomavirus-positive and -negative oropharyngeal squamous cell carcinoma. /Hatakeyama H, Mizumachi T, Sakashita T, Kano S, Homma A, Fukuda S. 1/6. *Oncol Rep*. 2014;32:2673-2679. 査読有
- 〔学会発表〕(計 3 件)
- 【招待講演】
1. Hatakeyama H<Invited lecturer>The personalized therapy for head and neck cancer using genome and proteome analysis. The National Romanian Congress of Otorhinolaryngology and Cervico Facial Surgery with International Participation. 2016.10.19-22. Hotel International Băile Felix (Oradea, Romania)
2. Hatakeyama H<FACO International Workshop9>Clinical adaptation of CRM197, EGFR ligand inhibitors, in mono and combination therapy with cetuximab for head and neck cancers. Federation of Asian Clinical Oncology(FACO). 2015.10.29-31. 京都国際会館(京都府京都市)

3. Hatakeyama H, Nakamaru Y, Takagi D, Homma A, Kano S, Mizumachi T, Sakashita T, Fukuda S, Morita S: The role of MicroRNAs in the malignant transformation of sinonasal inverted papilloma. 3rd Congress of European ORL-HNS. 2015.6.7-11. Prague Congress Centre (Prague, Czech)

〔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 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

畠山 博充 (Hatakeyama Hiromitsu)
北海道大学・大学病院・助教
研究者番号： 10455652

(2)研究分担者

本間 明宏 (Homma Akihiro)
北海道大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号： 30312359