

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462610

研究課題名(和文) ウイルス感染と腫瘍の生物学的活性による頭頸部癌一次治療効果と予後予測

研究課題名(英文) Prediction of primary treatment outcome and prognosis by viral infection and tumor activity in head and neck cancer

研究代表者

鈴木 幹男 (Suzuki, Mikio)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00226557

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)：1) ウイルス感染：ヒト乳頭腫ウイルス(HPV)関連癌の診断には、p16免疫染色を行い70%以上陽性な場合に、HPV-DNA検査/HPV insitu hybridization法を行う。両者が陽性の場合のみHPV関連癌であり、予後と相関することが判明した。HPVとEBVが共感染していた癌は上咽頭癌のみであった。2) 腫瘍の生物学的活性：PET検査でMTVが大きいものほど化学放射線治療で残存する傾向があることが判明した。3) 喫煙は喉頭がん、飲酒は下咽頭癌で発症リスクが高まることを見いだした。4) 頭頸部癌のde-escalation studyを倫理委員会の承認を受け開始した。

研究成果の概要(英文)：Both of p16 immunohistochemistry and PCR for detecton of HPV-DNA/HPV insitu hybridization are needed to determine human papillomavirus (HPV)-related cancer. EB virus infection was only noted in nasopharyngeal cancer of various head and neck cancers. Metabolic tumor volume in PET study was related to prognosis of oropharyngeal cancer in treatment of concurrent chemoradiotherapy. Of various causes, laryngeal cancer was affected by smoking habit, and hypopharyngeal cancer by alcohol intake. De-escalation study about HPV-related cancer is now underway for patients with oropharyngeal cancer.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部癌 ウイルス感染 生物学的活性 生活習慣 予後 ヒト乳頭腫ウイルス Epstein-Bar ウイルス

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌治療ではQOL維持を重視した化学放射線療法 (CCRT)が行われることが増加している。しかし、同治療により癌は治癒しても長期間晩期障害に悩まされることは稀でない。また頭頸部癌では重複癌は同じ頭頸部、食道に発生することが60%以上にみられ、長期的視野を持って、初期治療を選択することが重要である。

2. 研究の目的

発癌・治療予後に関する重要な因子についてこれまで多数の報告があるが、これらの因子間の相関、治療への反応予測・長期予後について頭頸部領域では報告が少ない。そこで以下に示す因子と臨床的パラメータとの相関を解析し、頭頸部癌の一次治療選択に役立つ本研究を想起した。

(1) ウイルス感染 (HPV, EBV) と生活習慣が一次治療、予後に与える影響

(2) 腫瘍の生物学的活性が一次治療、予後に与える影響

3. 研究の方法

(1) ウイルス感染 (HPV, EBV) と生活習慣

HPVはウイルス同定、ウイルス組み込み状態、ウイルス数、E6/7の遺伝子発現、p53・pRB・p16^{INK4a}の発現を免疫染色で測定する。EBVについてはin situ hybridization法を用いてウイルス感染を証明するとともに、LMP-1遺伝子発現を計測する。また、生活習慣が頭頸部癌の発症に与える影響を明らかにする。

(2) 腫瘍の生物学的活性

PET-CTを用いて、SUVmax, Metabolic tumor volume (MTV)を測定する。

1, 2)の測定項目間の相関、臨床パラメータ (性, 年齢, TNM分類, 腫瘍分化度, 飲酒量, 喫煙量, PET-CT検査でのSUVmax, MTV, 5年生存率, 導入化学療法への反応, 放射線治療への反応, 重複癌発生)との相関を解析し、頭頸部癌の一次治療の選択、予後予測に役立つかを検証した。

4. 研究成果

(1) ウイルス感染について

209例の頭頸部癌を対象にヒト乳頭腫ウイルス (HPV)、Epstein-Barウイルス (EBV)のDNA, EBVの遺伝型、LMP-1変異、HPVmRNA発現を調べた。頭頸部癌の30.1%にHPV感染が見られ、HPV-16が最も多かった (86.9%)。また中咽頭癌では45.9%が陽性であった。頭頸部癌の69.9%でEBV DNAが検出され、73.3%はA型、18.5%がB型であった。また84.9%は*del-LMP-1*を示した。しかし、EBERでは6.2%しか陽性を示さず、主に上咽頭癌がEBER陽性であった。また、HPVとEBERが共に陽性の症例は1例のみであり共感染は稀であると推定された。HPV関連中咽頭癌では非HPV関連中咽頭癌と比較して予後が良好であった。一方、EBV陽性上咽頭癌は予

後が良い傾向を示したが有意レベルに達しなかった ($p=0.155$)。

HPV関連癌 (HPV E6/E7mRNA陽性)の診断について、HPVDNA, p16免疫染色を用いて検討した。HPVmRNAが発現していなくてもHPV DNA陽性例があり、この特徴をもつ頭頸部癌は予後が悪かった。DPV DNA陽性、70%以上p16陽性を満たす例は、mRNA陽性を感度94.4%、特異度91.4%でmRNA発現を検出できた。すなわちHPV関連癌の診断には、70%以上のp16発現とHPV DNA陽性の2つが必要であることが判明した。mRNA検出は新鮮凍結組織が必要であるが、p16, HPV-DNA検出にはパラフィンブロックで可能であり、比較的臨床応用しやすいことがわかった。中咽頭癌に対しHPV感染を基準にしたde-escalation studyを開始した。進行中咽頭癌は化学放射線治療が行われることが多い。頸部転移は先行研究からHPV非関連癌では残存することがわかった。そこでHPV関連癌では化学放射線治療後の頸部郭清を省略、HPV非関連癌はリンパ節転移があった部位のみ郭清を実施し、HPV関連癌の治療強度を落とせるかを調査している。

(2) 生活習慣

生活習慣の影響は飲酒量、喫煙量で計測した。これには質問紙法と医師の問診で確認した。下咽頭癌、喉頭癌では飲酒量、喫煙量が発がんリスクとなっており、これらの摂取量が増加するほどリスクが上昇した。さらに、摂取量を細分化して検討すると、下咽頭癌はアルコール摂取により影響され、喉頭癌はアルコールより喫煙により影響を受けることが判明した。

(3) 腫瘍の生物学的活性

PET CTを用いて、SUVmax, MTVを計測した。中咽頭癌では通常扁桃にも集積するため腫瘍のみのものを抽出することは困難であった。一方、下咽頭癌、中咽頭癌の頸部転移については計測可能であった。SUVmaxと導入化学療法、化学放射線治療の反応は有意ではなかった。一方MTVは中咽頭癌で、化学放射線治療の一次治療効果と逆相関していた。このことからMTV計測は有用であると推定された。

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12件)

1) Hirakawa H, Hanai N, Ozawa T, Suzuki H, Nishikawa D, Matayoshi S, Suzuki M, Hasegawa Y. Prognostic impact of pathological response to neoadjuvant chemotherapy followed by definitive surgery in sinonasal squamous cell carcinoma. Head Neck. 2016 Apr;38 Suppl 1:E1305-11. doi: 10.1002/hed.24217. Epub 2016 Mar 2. PubMed PMID: 26934197. (査読有)

2) 喜友名朝則、喜瀬乗基、真栄田裕行、又吉宣、比嘉麻乃、鈴木幹男：喉頭乳頭腫に

おけるヒト乳頭腫ウイルス感染と臨床経過
喉頭 28:24-30, 2016 (査読有)
3) 鈴木幹男、上原貴行、山下懐、真栄田裕行、平川 仁: 頭頸部癌の診断と治療 沖縄県医師会報 52:804-809, 2016 (査読無)
4) 鈴木幹男、上原貴行: 中咽頭癌 HPV の視点からみた大きな変化 疫学と病態 中咽頭癌と子宮頸癌の HPV の違いは? JOHNS 32:287-292, 2016 (査読無)
5) 上原貴行、真栄田裕行、山下懐、長谷川昌宏、安慶名信也、鈴木幹男: 頭頸部癌に対する姑息的照射治療 耳鼻臨床 108:475-481, 2015 (査読有)
6) 鈴木幹男、山下懐: 喉頭癌の発症要因 JOHNS 31:405-408, 2015 (査読有)
7) Deng Z, Uehara T, Maeda H, Hasegawa M, Matayoshi S, Kiyuna A, Agena S, Pan X, Zhang C, Yamashita Y, Xie M, Suzuki M. Epstein-Barr virus and human papillomavirus infections and genotype distribution in head and neck cancers. PLoS One. 2014 Nov 18;9(11):e113702. doi: 10.1371/journal.pone.0113702. eCollection 2014. Erratum in: PLoS One. 2015;10(3):e0118439. PubMed PMID: 25405488; PubMed Central PMCID: PMC4236156. (査読有)
8) Zhang C, Deng Z, Chen Y, Suzuki M, Xie M. Is there a higher prevalence of human papillomavirus infection in Chinese laryngeal cancer patients? A systematic review and meta-analysis. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016 Feb;273(2):295-303. doi: 10.1007/s00405-014-3345-3. Epub 2014 Oct 26. PubMed PMID: 25344867 (査読有)
9) Hasegawa M, Maeda H, Deng Z, Kiyuna A, Ganaha A, Yamashita Y, Matayoshi S, Agena S, Toita T, Uehara T, Suzuki M. Prediction of concurrent chemoradiotherapy outcome in advanced oropharyngeal cancer. Int J Oncol. 2014 Sep;45(3):1017-26. doi: 10.3892/ijo.2014.2504. Epub 2014 Jun 18. PubMed PMID: 24969413; PubMed Central PMCID: PMC4121413. (査読有)
10) Deng Z, Hasegawa M, Aoki K, Matayoshi S, Kiyuna A, Yamashita Y, Uehara T, Agena S, Maeda H, Xie M, Suzuki M. A comprehensive evaluation of human papillomavirus positive status and p16INK4a overexpression as a prognostic biomarker in head and neck squamous cell carcinoma. Int J Oncol. 2014 Jul;45(1):67-76. doi: 10.3892/ijo.2014.2440. Epub 2014 May 12. PubMed PMID: 24820457; PubMed Central PMCID: PMC4079160. (査読有)
11) 鈴木幹男: 鼻副鼻腔腫瘍の診断と病理 日耳鼻 117:1212-1215, 2014 (査読無)
12) 鈴木幹男: ヒト乳頭腫ウイルス感染の現状と新しい展開 鼻副鼻腔腫瘍と HPV 日

耳鼻 117:769-774, 2014 (査読無)

[学会発表](計 5 件)

- 1) Suzuki M, et al: Branchiogenic carcinoma with high-risk type human papillomavirus infection.. Eurogin 2016, Salzburg, Austria
- 2) Suzuki M: HPV-related head and neck cancer. 10th Anniversary Symposium of the Otolaryngology-Head and Neck Surgery. 2016, Seoul, Korea.
- 3) Suzuki M, et al: Clinical importance of HPV testing in advanced oropharyngeal cancer. 16th Japan-Korea Joint Meeting of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, 2016, Tokyo, Japan
- 4) Suzuki M, et al: Prediction of concurrent chemoradiotherapy effect in advanced oropharyngeal cancer. 13th Asia-Oceania ORL-HNS Congress, 2015, Taipei, Taiwan.
- 5) Suzuki M, et al: HPV(+) and/or p16 INK4a overexpression vs HPV(-) and/or non-overexpression for the prognosis of HNSCC, IFHNOS 2014, 2014, New York, USA.

6)

[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

<https://ent-ryukyuu.jp/results.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木幹男 (SUZUKI, Mikio)

琉球大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 00226557

(2) 研究分担者

上原貴行 (UEHARA, Takayuki)

琉球大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：00644402
真栄田裕行 (MAEDA, Hiroyuki)
琉球大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：40264501
Deng Zeyi (とう たくぎ)
琉球大学・大学院医学研究科・客員研究員
研究者番号：50723863