

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463037

研究課題名(和文) HPV関連口腔癌患者の予後と関連するエピジェネティックな変異のゲノム網羅的探索

研究課題名(英文) Genome-wide screening of epigenetic abnormalities which are related with the prognosis of patients with HPV related oral cancers

研究代表者

阿部 雅修 (Abe, Masanobu)

東京大学・保健・健康推進本部・講師

研究者番号：10392333

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトパピローマウイルス(HPV)陽性の口腔扁平上皮癌を同定し、HPV陰性の口腔扁平上皮癌に対するエピジェネティックな異常の違いについて検討することを目的とした。HPV16単独、HPV18単独、高リスクHPV群、低リスクHPV群への感染の有無について、口腔扁平上皮癌49である口腔白板症37検体、口腔扁平苔癬2検体、口腔上皮内新生物4検体、計92個の手術材料を対象に解析を行った。全てのサンプルにおいてヒト-globinは検出されたが、HPVに感染している症例は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：The goal of this study was to determine the epigenetic differences between human papilloma virus (HPV)-positive and HPV-negative oral squamous cell carcinomas (OSCCs). For the number of 92 surgical specimens; OSCC(n=49), oral leukoplakia(n=37), oral lichen planus (n=2), Oral intraepithelial neoplasia (n=4), the infectious status of HPV (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) were analyzed by PCR. However, HPV infection was not observed at all in any samples. The of HPV infection in oral cancers are considered to be quite rare unlike oropharyngeal carcinomas.

研究分野：口腔癌

キーワード：HPV

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌研究における最近の最も重要な進歩は、HPV 感染の有無と中咽頭癌患者の予後との密接な相関であると言っても過言ではない。HPV 陽性の中咽頭癌患者の予後は HPV 感染陰性の中咽頭癌患者に対して有意に予後不良であることがわかってきた。一方、同じ頭頸部癌であっても口腔癌においては、研究開始当初においては HPV 感染の有無による予後の違いについて多くの研究報告が存在するが明確な違いは認められていなかった。

口腔粘膜は、タバコ、飲酒のみならず、食物や口腔内細菌、金属冠や義歯などの歯科補綴物などの様々な外的刺激に直接的に暴露されており、その程度は個人によって様々である。つまり口腔癌では HPV 感染以外の発癌に関与すると予測されるリスク因子が多種多様であり (Gajendra, S *et al*, *J Cancer Educ*, 2006)、その多様性ゆえに口腔癌患者では HPV 感染の有無により予後にクリアな差が認められない可能性がある。

ヒト・パピローマウイルス (HPV) は 100 種類以上、その存在が確認されているが、そのうち少なくとも 15 種類の HPV が発がん性を有していると考えられている (Marur, S *et al*, *Lancet Oncol* 2010; 11: 781-89)。特に HPV16 型は、頭頸部癌における陽性例が 14-68%と高く、その重要性が注目されていた (J Mork, *et al*, *N Engl J Med* 2001, Ang K, *et al*, *N Engl J Med*. 2010)。頭頸部癌の中でも、中咽頭癌においては HPV 陽性の患者は陰性の患者と比較して化学療法や放射線治療に対する感受性が高く、生命予後が有意に良好であり、HPV 感染の状態は中咽頭癌患者の生存において強力かつ独

立した予後因子である。HPV 関連中咽頭癌の分子生物学的特徴としては、細胞周期調節因子である p16 遺伝子が高発現し、p53 遺伝子の変異が少ないことが報告されているが、なぜ治療反応性が高く予後が良好であるかについての詳細は明らかになっていなかった。さらに口腔扁平上皮癌を含めた中咽頭癌以外の頭頸部癌では HPV 感染の状態は生命予後との明白な相関は認められておらず、そのため HPV 感染の状態は治療方針の決定に影響をもたない状況であった。

これまでの報告によると口腔扁平上皮癌患者においても HPV 感染は全体の 20%において認められると報告されているが、HPV 感染による生命予後への影響は明らかではなかった (Isayeva T, *et al*, *Head and Neck Pathol* 2012)。進行口腔扁平上皮癌患者のうち HPV 陽性の患者では、所属リンパ節転移や遠隔転移のリスクが高く予後不良とする報告もあるが、その普遍性は定かではなかった (Lee, L *et al*, *PLoS ONE* 2012)。

## 2. 研究の目的

本研究では、HPV 陽性の口腔扁平上皮癌を同定し、HPV 陰性の口腔扁平上皮癌に対するエピジェネティックな異常の違いについて検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

エピジェネティックな異常の有無に関しては、ゲノム網羅的解析により同定した口腔扁平上皮癌に特異的にメチル化サイレンシングされる新規 8 遺伝子を指標にすることにした [Abe M *et al*., *BMC Cancer*, 2016, 16(1):350]。3 個以上の遺伝子に DNA のメチル化異常を有する症例を CpG アイランドメチル化形質陽性群 (CIMP 陽性群)、3 個未満の症例を CpG アイランドメチル化形質

陰性群(CIMP 陰性群)とした。HPV16 単独、HPV18 単独、高リスク群 (HPV 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) 低リスク群 (HPV 6, 11) への感染の有無について、口腔扁平上皮癌 49 サンプル、口腔前がん病変である口腔白板症 37 サンプル、口腔前癌状態である口腔扁平苔癬 2 サンプル、口腔上皮内新生物 (Oral intraepithelial neoplasia) 4 サンプル、計 92 サンプルの手術材料に対して解析を行った。組織から DNA を抽出し、20~50 ng/uL に希釈し、Seeplex HPV4A ACE Kit を用いて PCR を施行した。コントロールとして、ヒト  $\beta$ -globin を用いた。

#### 4. 研究成果

全てのサンプルにおいてヒト  $\beta$ -globin は検出されたが、HPV16、HPV18、高リスク HPV 群 (HPV 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) 低リスク HPV 群 (HPV 6, 11) に感染している口腔扁平上皮癌 (49 例) 口腔前癌病変 (37 例) 口腔扁平苔癬 (2 例) および口腔上皮内新生物 (4 例) は認められなかった。全てのサンプルにおいて、HPV 陽性サンプルを同定することは出来なかったため、HPV 陽性、陰性間でのエピジェネティックな違いを解析するには至らなかった。本研究の結果からは、中咽頭癌の発生においては、HPV が関与している頻度が高いことが知られているものの、同じ頭頸部癌であっても口腔扁平上皮癌においては、その頻度は非常に低いと考えられた。

#### 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 16 件)

1. Asada K, Abe M and Ushijima T. The CpG

island methylator phenotype in neuroblastomas and its clinical applications. *J Hum Genet* 2013;58(7):428-33.

2. Saijo H, Kawase-Koga Y, Mori Y, Seto I, Abe M, Ohkubo K, Hoshi K, Takato T. Application of percutaneous zygomatic arch osteotomy for protrusion deformity of the zygoma following facial fracture surgery. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol.* 26(2014)138-141.
3. Takato T, Mori Y, Fujihara Y, Asawa Y, Nishizawa S, Kanazawa S, Ogasawara T, Saijo H, Abe T, Abe M, Suenaga H, Kanno Y, Sugiyama M, Hoshi K. Preclinical and clinical research on bone and cartilage regenerative medicine in oral and maxillofacial region. *Oral Sci Int.* 11(2014)45-51.
4. Abe M, Mori Y, Kanno Y, Hoshi K, Saijo H, Abe T, Ohkubo K and Takato T. A case of pleomorphic adenoma of the parotid gland with multiple local recurrences through facial to cervical region. *Open J Stomatol.* 2014, 4, 441-445.
5. Abe M, Mori Y, Inaki R, Ohata Y, Abe T, Saijo H, Ohkubo K, Hoshi K and Takato T. A case of odontogenic infection by *Streptococcus constellatus* leading to systemic infection in a Cogan's syndrome patient. *Case Rep Dent* 2014;2014:793174.
6. Kawase-Koga Y, Mori Y, Fujii Y, Kanno Y, Abe T, Abe M, Suenaga H, Saijo H, Chikaz D, Hoshi K, Susami T, Takato T. Clinical study of the complications at proximal segment with intraoral vertical ramus osteotomy (IVRO); related to the osteotomy line? *J Oral Maxillofac Surg.* 09/2014; 72(9):e132-e133.
7. Inaki R, Igarashi M, Abe M, Saijo H, Hoshi K and Takato T. A case of infective endocarditis by *Streptococcus mutans* bacteremia induced by asymptomatic chronic dental caries in a wisdom tooth. *Oral Sci Jpn* 2014, 95-96.
8. Abe M, Inaki R, Kanno Y, Hoshi K and Takato T. Molecular analysis of a mammary analogue secretory carcinoma in the upper lip - Novel search for genetic and epigenetic abnormalities in MASC - *Intl J Surg Case Rep* 2015;9:8-11.
9. Itai S, Yonenaga K, Uchiyama T, Suenaga H, Abe M, Saijo H, Hoshi K and Takato T. Management oral care of a case of bullous pemphigoid with oral hemorrhage and oral dyskinesia. *Oral Sci Jpn* 2015, 97-98.
10. Zong L, Abe M, Ji J, Zhu WG and Yu D.

Tracking the Correlation between CpG Island Methylator Phenotype, and other Molecular Features and Clinicopathological Features in Colorectal Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin and Transl Gastroenterol* 2016 Mar 10; 7:e151. PMID: 26963001

11. **Abe M**, Yamashita S, Mori Y, **Abe T**, Saijo H, Hoshi K, Ushijima T and Takato T. High-risk oral leukoplakia is associated with aberrant promoter methylation of multiple genes. *BMC Cancer*. 2016, 16(1):350
12. Zong L, **Abe M**, Seto Y and Ji J. Randomized Controlled Trial of Laparoscopic Versus Open D2 Distal Gastrectomy for Advanced Gastric Cancer: How Should We Define the Age of Included Patients? *J Clin Oncol*. 2016/682500.
13. Zong L, **Abe M**, Seto Y and Ji J. Challenge of China's diagnosis of early gastric cancer. *Lancet* 2016 Nov 26;388(10060):2606.
14. **Abe M**, Hoshi K, Shojima M, Ushiku T, Suenaga H, Yonenaga K, Kobayashi K, Zong L, **Abe T**, and Takato T. A large pyogenic granuloma with extensive maxillary bone resorption penetrating the maxillary sinus: a rare case report. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol*, 29(2017)254-257.
15. **Abe M**, **Abe T**, Mogi R, Kamimoto H, Hatano N, Taniguchi A, Saijo H, Hoshi K, and Takato T. A case of cervical necrotizing fasciitis of odontogenic origin in a young healthy patient without pre-systemic disorders. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol*, online.
16. Zong L, Deng J, Wang J, Wu A, Wang J, Sun Z, Maeda M, **Abe M**, Wang W, Jiang Z, Seto Y and Ji J. Feasibility of Laparoscopic Gastrectomy for Elderly Gastric Cancer Patients: Meta-analysis of Non-Randomised Controlled Studies. *Oncotarget*, online.

〔学会発表〕(計 9件)

1. 阿部雅修、森良之、安部貴大、末永英之、古賀陽子、瀬戸一郎、西條英人、星和人、高戸毅 口腔扁平上皮癌の発生過程においてサイレンシングされる遺伝子のゲノム網羅的探索 第 67 回日本口腔科学会総会、栃木、2013 年 5 月
2. 阿部雅修、山下聡、森良之、安部貴大、西條英人、牛島俊和、高戸毅 口腔扁平上皮癌における新規メチル化サイレン

シング遺伝子の同定 第 72 回日本癌学会学術総会、横浜、2013 年 10 月

3. 阿部雅修、森良之、安部貴大、西條英人、高戸毅 食道癌において喫煙と関連する DNA メチル化異常の口腔癌における検討 第 32 回日本口腔腫瘍学会総会・学術集会、札幌、2014 年 1 月
4. **Abe M**, Yamashita S., Mori Y., **Abe T**, Saijo H., Ushijima T. and Takato T. Identification of novel methylation-silenced genes in oral squamous cell carcinomas. AACR Annual meeting 2014, San Diego, CA, USA, April, 2014.
5. 阿部雅修、森良之、安部貴大、末永英之、古賀陽子、西條英人、星和人、高戸毅 口腔扁平上皮癌における新規サイレンシング遺伝子の同定および既知がん遺伝子・がん抑制遺伝子の変異との関連性についての検討 第 68 回日本口腔科学会総会、東京、2014 年 5 月
6. 阿部雅修、森良之、安部貴大、西條英人、星和人、高戸毅 口腔扁平上皮癌における新規不活化遺伝子の同定と癌関連遺伝子変異との関連性 第 59 回日本口腔外科学会総会・学術大会、千葉、2014 年 10 月
7. **Abe M**, Yamashita S., Mori Y., **Abe T**, Saijo H, Hoshi K, Ushijima T. and Takato T. Presence of aberrant promoter methylation in oral leukoplakia with high-risk of malignant transformation. The Tenth AACR-JCA Joint Conference: Breakthrough in basic and translational cancer research, Maui, HI, USA, February, 2016
8. **Abe M**, Yamashita S., Mori Y., **Abe T**, Saijo H, Hoshi K, Ushijima T. and Takato T. High-risk oral leukoplakia is associated with promoter methylation of multiple genes. The 35<sup>th</sup> Sapporo International Cancer Symposium: Cancer epigenome: From discovery to translation, Sapporo, Japan, June, 2016
9. 阿部雅修、森良之、安部貴大、西條英人、星和人、高戸毅 口腔白板症の悪性化リスクと密接に関連する新規サイレンシング遺伝子の同定 第 61 回日本口腔外科学会総会・学術大会、千葉、2016 年 11 月

〔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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

阿部 雅修 (ABE, Masanobu)  
東京大学・保健・健康推進本部・講師  
研究者番号： 10392333

### (2) 研究分担者

小笠原 徹 (OGASAWARA, Toru)  
東京大学医学部附属病院顎口腔外科・歯科  
矯正歯科・講師  
研究者番号： 20359623

### (3) 連携研究者

安部 貴大 (ABE, Takahiro)  
東京大学医学部附属病院顎口腔外科・歯科  
矯正歯科・特任講師  
研究者番号： 20383250

### (4) 研究協力者

( )