

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 3 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861390

研究課題名(和文)形態機能病理学的評価に基づいた唾液腺癌に対する個別化治療戦略

研究課題名(英文) Personalized treatment strategy for salivary gland carcinoma based on histopathological analysis

研究代表者

橋本 和樹 (Hashimoto, Kazuki)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：20707195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：唾液腺癌は悪性度の異なる様々な腫瘍により構成されている。本研究では221例の唾液腺癌症例においてezrin蛋白を中心に発現解析を行い、ezrin発現がHER2、p53、Ki-67といった既知の悪性度マーカーの発現と関連していること、ezrin高発現例は組織学的悪性度が高いことを明らかにした。またezrin高発現例は高率に遠隔転移を来し、独立した予後不良因子であった。とりわけezrinとHER2を共発現する症例は遠隔転移発生率が高く、有意に予後不良であった。ezrin高発現例(とくにHER2共発現例)に対しては、分子標的治療を含めた術後治療が、遠隔転移の予防、予後の改善に寄与する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Salivary gland carcinomas (SGCs) exhibit heterogeneous biological behaviors. The aim of the present study was to investigate the relationship between ezrin expression and the expression of HER2, p53, and Ki-67 as well as clinicopathological factors in 221 SGC patients. High ezrin expression detected in samples from 63 (28.5%) patients significantly correlated with high-grade histopathology, high expression of Ki-67, HER2, p53, and distant metastasis. Multivariate analysis demonstrated that high ezrin expression was an independent prognostic factor for shorter overall survival. Further, concomitant expression of ezrin and HER2 correlated significantly with shorter overall survival as well as a high incidence of distant metastasis. These findings indicate that ezrin and HER2 expression in patients with SGCs represents a high-grade histopathological subtype that requires adjuvant therapy, including molecularly targeted therapies, to decrease the risk of subsequent metastasis.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部癌 唾液腺癌 遠隔転移 病理 個別化治療 分子標的治療 ezrin HER2

1. 研究開始当初の背景

(1) 唾液腺癌は比較的まれな腫瘍であるが、23種類もの多彩な腫瘍組織型によって構成される疾患である。各組織型によってその臨床的悪性度(再発、転移の発生頻度や生命予後)は様々に異なるが、特に高悪性度腫瘍においては、組織分類に応じた標準治療は十分には確率されておらず、現時点で有効な化学療法レジメンも存在しないのが現状である。

(2) 各腫瘍組織型の臨床的悪性度を規定する分子学的な背景についても、各々の症例数の少なさから十分には解明されておらず、分子生物学的性質に則した個別化治療には至っていない。高悪性度唾液腺癌に対し近年、受容体型チロシンキナーゼである HER2 を標的とした分子標的治療も検討されているが、適応症例の選別基準や併用する抗がん剤の選択など、今後の検討課題も多い。

2. 研究の目的

(1) 唾液腺癌手術症例において、詳細な組織学的評価(組織学的悪性度分類、進展度評価、神経・脈管浸潤評価等)を行い、各組織学的因子が再発や転移に与える影響を明らかにする。

(2) ERM ファミリー蛋白分子のひとつである ezrin 蛋白の発現解析を行い、これまでに唾液腺癌において悪性度との相関が報告されている他の分子学的異常(p53, HER2, Ki-67)との関連を明らかにする。また、これら分子の発現異常が、再発や転移、予後に与える影響を明らかにし、唾液腺癌における新たな治療標的としての可能性を探る。加えて、近年注目されている免疫チェックポイントのひとつである PD-L1 の発現解析を行い、唾液腺癌の臨床的悪性度に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 国立がん研究センター東病院・頭頸部外科において1992.7月より2014.3月の間に初回根治手術治療を行った唾液腺癌症例221例について、手術摘出標本を用いた組織学的因子の評価(悪性度分類、進展度、切除断端、神経・血管・リンパ管浸潤評価)を行った。

(2) 各症例のパラフィン固定ブロックより腫瘍成分のみを抽出した組織マイクロアレイブロックを作成。全221例において免疫組織化学染色を行い、ezrin, p53, HER2, Ki-67, PD-L1分子の蛋白発現を解析した。HER2に関しては in-situ hybridization を行い、遺伝子増幅の解析を行った。

(3) 上記の解析で得られた組織学的因子と分子発現異常との関連を解析した。また診療録より全症例の術後臨床経過を調査し、再発、遠隔転移の有無やその発生時期、生存状況等

の臨床情報を抽出した。そして、組織学的因子と分子発現異常が臨床経過に与える影響を解析した。

4. 研究成果

(1) 唾液腺癌における ezrin 発現異常:

蛋白発現解析の結果、正常唾液腺組織ではほぼ見られない ezrin 蛋白の高発現を、唾液腺癌症例の28.5%で認めた(図1)。ezrin 発現と組織学的因子、他の分子発現異常との関連を解析すると、ezrin 高発現は、組織学的高悪性度、Ki-67 高値、p53 異常発現、HER2 陽性と有意な相関を認めた。

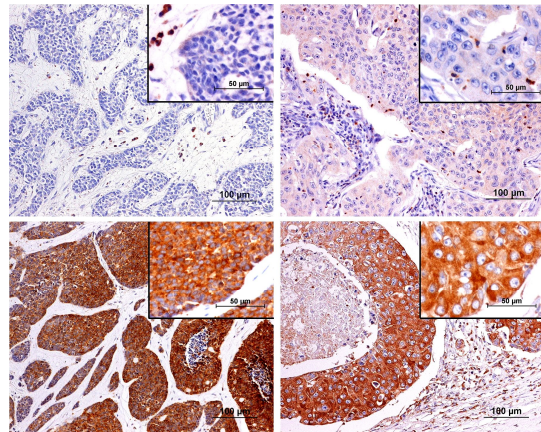


図1 ezrin 低発現(上段)と高発現(下段)

(2) ezrin 発現と遠隔転移、予後との関連:

ezrin 発現が予後に与える影響を検討した。その結果、ezrin 高発現群は、低発現群と比較して術後の遠隔転移発生率が高く、有意に予後不良であった(図2)。

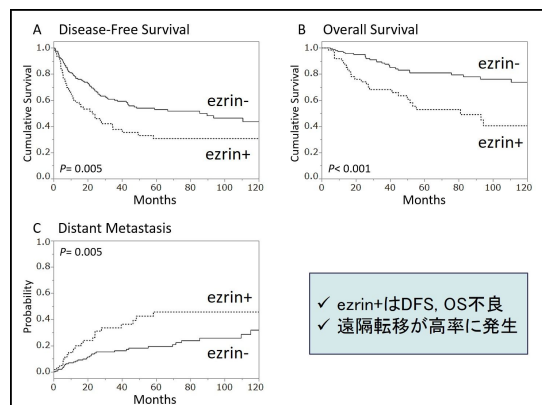


図2 ezrin 発現と遠隔転移、予後

また、唾液腺癌を構成する代表的な組織型である腺様嚢胞癌(ACC)、多形腺腫由来癌(CxPA)、粘表皮癌(MEC)、唾液腺導管癌(SDC)のそれぞれで解析を行った結果、各々の症例数が少ないため有意差こそ認めないものの、とくに SDC や CxPA といった高悪性度腫瘍において ezrin 高発現群は予後不良である傾向を認めた(図3)。

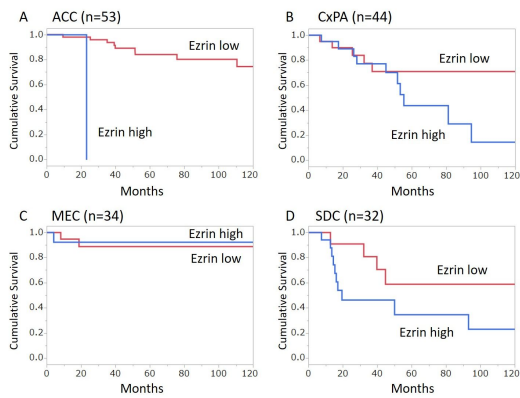


図3 各組織型における ezrin 発現と予後

さらに、組織学的因子と分子発現異常を含めた多変量解析の結果でも、ezrin 高発現は T ステージ（局所進展度）とともに、唾液腺癌の独立した予後不良因子であった。

(3) ezrin と HER2 の共発現：

これまでに、高悪性度の乳癌や骨肉腫において ezrin と HER2 の共発現が報告されている。本研究の結果、唾液腺癌においても ezrin 高発現と HER2 過剰発現との間に有意な相関を認めた。また、ezrin と HER2 を共発現する群は、一方のみを発現する群とともに陰性の群と比較して、有意に高率に遠隔転移を発生し予後不良であった（図4）。

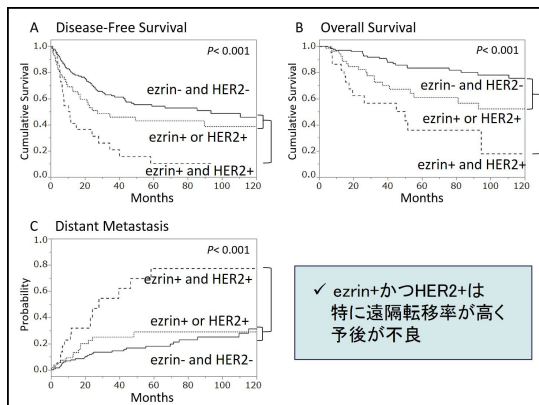


図4 ezrin/HER2 共発現と遠隔転移、予後

ezrin は受容体型チロシンキナーゼと結合することで、浸潤・増殖に関わる細胞内シグナル伝達を促進することが知られている。唾液腺癌においても ezrin と HER2 が協働して機能することで、癌細胞の浸潤転移能獲得に関与している可能性がある。このため、ezrin/HER2 共発現例においては、HER2 等のチロシンキナーゼを標的とした分子標的治療が、遠隔転移の予防・予後の改善に寄与する可能性が示唆される。

(4) 唾液腺癌における PD-L1 発現：

癌細胞は PD-L1 を発現することにより、リ

ンパ球による抗腫瘍免疫応答から免れていることが知られている。近年頭頸部癌においても、免疫チェックポイント阻害剤による抗腫瘍効果が報告されている。今回、唾液腺癌における PD-L1 発現を解析し、22.8%の唾液腺癌症例で PD-L1 蛋白の発現を認めた（図5）。

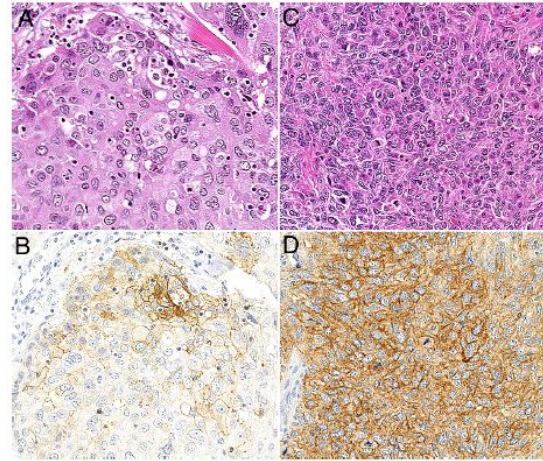


図5 唾液腺癌における PD-L1 発現

また、唾液腺癌において PD-L1 発現は予後と相関しており、無再発生存に関して独立した予後不良因子であった（図6）。免疫チェックポイント阻害剤が、唾液腺癌治療の一つの選択肢となる可能性が示唆される。

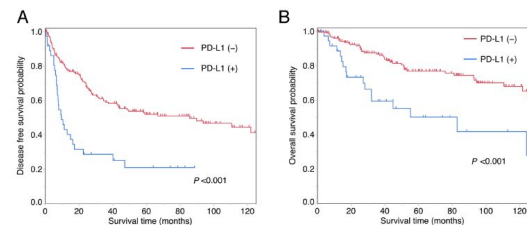


図1 唾液腺癌における PD-L1 発現と予後

(5) 今後の展望・課題：

本研究では、ezrin や PD-L1 といった分子の発現異常と組織学的因子、臨床経過を比較することにより、間接的にこれら分子が唾液腺癌の浸潤・転移に与える影響を検討した。今後、細胞株を用いてさらにこれら分子が唾液腺癌細胞にもたらす影響を直接的に解析する必要があると考える。また、単一分子の異常のみでなく、網羅的解析による唾液腺癌の遺伝子異常プロファイルを明らかにすることにより、臨床上より有用な唾液腺癌の新たな分類の提唱が望まれる。

唾液腺癌は、その発生頻度の低さや組織型の多彩さから単一施設での多数症例の収集が難しく、大規模な基礎的・臨床的研究が困難であるのが現状である。将来的に、より多くの施設を跨いだ横断的な臨床病理学的データの蓄積と分子生物学的解析を行うことにより、唾液腺癌の個別化治療、予後の改善

につながることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Hashimoto K, Hayashi R, Mukaigawa T, Yamazaki M, Fujii S. Concomitant expression of ezrin and HER2 predicts distant metastasis and poor prognosis of patients with salivary gland carcinomas. *Human Pathology*(査読有). 2017 Mar 11. pii: S0046-8177(17)30068-0. doi:10.1016/j.humpath.2017.02.017.

Yasumatsu R, Nakashima T, Sato M, Nakano T, Kogo R, Hashimoto K, Sawatsubashi M, Nakagawa T. Clinical management of squamous cell carcinoma associated with sinonasal inverted papilloma. *Auris Nasus Larynx* (査読有). 2017 Feb;44(1):98-103. doi: 10.1016/j.anl.2016.04.004.

Hashimoto K, Yasumatsu R, Toh S, Shiratsuchi H, Yoshida T, Nishiyama K, Yoshikawa H, Nakashima T, Nakagawa T. Patterns of lymphatic spread and the management of eyelid carcinomas. *Auris Nasus Larynx* (査読有). 2016 Dec;43(6):666-71. doi: 10.1016/j.anl.2016.02.011.

Mukaigawa T, Hayashi R, Hashimoto K, Ugumori T, Hato N, Fujii S. Programmed death ligand-1 expression is associated with poor disease free survival in salivary gland carcinomas. *Journal of Surgical Oncology* (査読有). 2016 Jul;114(1):36-43. doi: 10.1002/jso.24266.

Nakashima T, Yasumatsu R, Toh S, Hashimoto K, Shinoto M, Nakamura K, Komune S. Is there a role of adjuvant treatment for salivary duct carcinoma? *J Laryngol Otol* (査読有). 2015 Mar;129 Suppl 2:S98-101. doi: 10.1017/S0022215114002965.

野田哲平, 安松隆治, 中野貴史, 橋本和樹, 藤賢史, 中島寅彦, 小田義直, 小宗静男、術前化学療法が奏効した HPV6 陽性中咽頭癌の 1 例、耳鼻と臨床(査読有) 61 巻 1 号、2015、25-31
http://doi.org/10.11334/jibi.61.1_25

橋本和樹, 中島寅彦, 藤賢史, 安松隆治, 小宗静男、精神疾患を有する頭頸部癌症例の検討、頭頸部外科(査読有) 24 巻 2 号、2014、195-199

<http://doi.org/10.5106/jjshns.24.195>

〔学会発表〕(計 7 件)

橋本和樹、中咽頭癌症例における HPV 感染と重複癌との関連について、第 27 回日本頭頸部外科学会総会、2017.02.02-03、東京

Kazuki Hashimoto, Patterns of lymphatic spread and the management of eyelid carcinomas, AHNS 9th International Conference on Head and Neck Cancer. 2016.07.16-20, シアトル

橋本和樹、口腔・中咽頭原発小唾液腺癌の臨床病理学的検討、第 29 回千葉頭頸部腫瘍研究会、2016.02.20、千葉

橋本和樹、口腔・中咽頭原発腺様嚢胞癌の臨床病理学的検討、第 28 回日本口腔・咽頭科学会総会、2015.09.10-11、大阪

橋本和樹、口腔・中咽頭原発小唾液腺癌 79 例の臨床病理学的検討、第 39 回日本頭頸部癌学会、2015.06.04-06、神戸

橋本和樹、唾液腺原発 Large Cell Carcinoma の臨床病理学的検討、第 25 回日本頭頸部外科学会総会、2015.01.29-30、大阪

橋本和樹、眼部発生上皮性悪性腫瘍における頸部リンパ節転移様式と治療に関する検討、第 38 回日本頭頸部癌学会、2014.06.12-13、東京

6. 研究組織

(1)研究代表者

橋本和樹 (HASHIMOTO, Kazuki)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：20707195

(2)研究協力者

林 隆一 (HAYASHI, Ryuichi)
藤井 誠志 (FUJII, Satoshi)
向川 卓志 (MUKAIGAWA, Takashi)