

Novel prognostic value and potential utility of opioid receptor gene methylation in liquid biopsy for oral cavity cancer

メタデータ	言語: en 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2023-09-15 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 石川, 竜司 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/0002000001

博士 (医学) 石川 竜司

論文題目

Novel prognostic value and potential utility of opioid receptor gene methylation in liquid biopsy for oral cavity cancer

(口腔がんのオピオイド受容体遺伝子メチル化解析による新たな予後評価とリキッドバイオプシーの潜在的有用性について)

論文の内容の要旨

[はじめに]

頭頸部がんは、口腔、咽頭（上咽頭、中咽頭、下咽頭）、喉頭および副鼻腔に発生する。タバコやアルコールへの曝露やヒトパピローマウイルスの感染などが原因で発生する予後不良な疾患である。また、発生部位によって性質の異なる不均一な固形がんであり、ジェネティックおよびエピジェネティックな変化の多段階な蓄積によって発生するとされる。治療成績改善のために、精密医療、診断技術の開発、新規治療ターゲットの同定などの新たな治療戦略が望まれおり、発生部位による精密な予後予測を可能にするバイオマーカーの特定が求められている。

Gタンパク質共役受容体 (GPCR) は、がんの発生、転移を含むさまざまな生理学的機能や疾患において極めて重要な役割を果たす細胞表面シグナル伝達タンパク質である。オピオイド受容体 (OR) は 5 種類が存在し、 μ 受容体 (*OPRM1*)、 κ 受容体 (*OPRK1*)、 δ 受容体 (*OPRD1*)、オピオイド関連ノシセプチン受容体 (*OPRL1*)、および ζ 受容体 (*OGFR*) がある。本研究グループはこれまで、同じ GPCR クラス A グループ γ に属するソマトスタチン受容体 1 型 (*SSTR1*)、ガラニン受容体 (*GALR1*, *GALR2*) の DNA メチル化が頭頸部がん患者の予後と関連することを報告してきた。

本研究では、OR 遺伝子の DNA メチル化を腫瘍部位別に解析し、リキッドバイオプシーによる治療前後の評価について検討した。

[材料ならびに方法]

本研究は、浜松医科大学の生命科学・医学系研究倫理委員会の承認を得て行われた (承認番号: 17-041 および 25-149)。臨床検体は、浜松医科大学医学部附属病院で手術治療され、研究参加に同意の得られた症例 (301 例: 口腔がん 88 例、中咽頭がん 75 例、下咽頭がん 79 例、喉頭がん 59 例) を対象とした。がん部と正常粘膜のペア 40 症例をスクリーニング解析に使用した。リキッドバイオプシーとして、口腔がん 5 症例に対して手術治療前後に採血を行った。

手術摘出検体から抽出した DNA、リキッドバイオプシーから抽出した circulating tumor DNA (ctDNA) をバイサルファイト処理しメチル化解析に使用した。定量的メチル化特異的 PCR (Q-MSP-PCR) を行い、 β アクチン (ACTB) をコントロールとして用い、頭頸部がんサンプル結果を S、完全メチル化コントロールの結果を FM として、Normalized methylation value (NMV) = (OR-S/OR-FM) / (ACTB-S/ACTB-FM) を算出した。がん部と正常粘膜のペア

症例の NMV を用いて ROC 曲線を作成し、各 OR 遺伝子のカットオフ値を決定した。各 OR 遺伝子 NMV と臨床情報について統計学的解析を行った。

[結果]

がん部と正常粘膜のペアの解析で *OPRL1*、*OPRMI* 遺伝子が、がん部で高メチル化の頻度が有意に高かった ($p=0.025$ 、 $p=0.001$)。OR 遺伝子の合計メチル化数 (methylation index) は、非喫煙群は喫煙群と比べて ($p=0.018$)、頸部リンパ節転移あり群は頸部リンパ節なし群と比べて ($p=0.003$)、ステージ III、IV 群はステージ I、II 群と比べて ($p=0.005$)、有意に高かった。

カプラン・マイヤー法とログランク検定による予後解析では、頭頸部がん 301 例の解析では、メチル化あり群、なし群で有意差を認める OR 遺伝子はなかった。腫瘍部位別の Cox 比例ハザードモデルでは、口腔がんにおいて、年齢、喫煙歴、飲酒歴、HPV 関連の有無、ステージでの *OPRL1* メチル化の再発オッズ比は 2.13 (95% confidence interval [CI], 1.10–4.14; $p=0.025$)、*OPRMI* メチル化のある症例では再発オッズ比は 3.19 (95% CI, 1.60–6.38; $p=0.001$) で有意差を認めた。

これらの結果を踏まえて、口腔がん症例における ctDNA メチル化解析を行った。*OPRL1* 遺伝子では、手術治療前と後の ctDNA メチル化解析において、治療後に有意にメチル化度が減少した ($p=0.012$)。*OPRMI* 遺伝子では、手術治療前と後の ctDNA 解析でメチル化を検出できなかった。

[考察]

本研究から、口腔がんにおいて 5 つの OR 遺伝子のうち *OPRL1*、*OPRMI* 遺伝子のメチル化症例が再発をきたしやすいことが分かった。手術サンプルのみによる解析結果ではあるが、*OPRL1*、*OPRMI* 遺伝子が口腔がんにおける予後予測マーカーまた治療標的分子候補としての可能性を示した。

さらに、リキッドバイオプシーによる ctDNA メチル化解析にて、*OPRL1* 遺伝子は口腔がん手術治療前後の有用なメチル化マーカーになることがわかった。ctDNA メチル化は、がん発症の初期段階で検出が可能であることから、がん発見のために有用とされる。本研究では、口腔がんにおける *OPRL1* 遺伝子の ctDNA メチル化解析は、リアルタイムな術後患者の観察に有用であることを示した。

今後は、口腔がんにおける *OPRL1*、*OPRMI* 遺伝子の機能的役割の解明、術後長期間の ctDNA メチル化解析について検討が必要である。

[結論]

口腔がんにおいて、*OPRL1*、*OPRMI* 遺伝子の高メチル化群が再発しやすいことが分かった。口腔がん治療後のリキッドバイオプシーで *OPRL1* 遺伝子のメチル化が減少することが示され、口腔がん管理に有用であることが示唆された