

平成 30 年 9 月 4 日現在

機関番号：87102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10125

研究課題名(和文)食道・頭頸部癌の発生・進展における喫煙・飲酒に起因する障害と修復系異常の分子機序

研究課題名(英文)Molecular mechanism of development and progression of upper aerodigestive tract cancer induced by cigarette smoking and alcohol drinking

研究代表者

森田 勝(Morita, Masaru)

独立行政法人国立病院機構(九州がんセンター臨床研究センター)・その他部局等・統括診療部長

研究者番号：30294937

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：食道・頭頸部癌の発生、癌多発の分子機序を喫煙、飲酒の暴露に着目し明らかにすることを目的とし、研究を進めた。

成果：1) 喫煙・飲酒が惹起する正常食道粘膜のゲノム全体のメチル化低下が“発癌の場”を形成し、多発癌の発生に関与している。2) 食道癌の若年発症(50歳未満)例では喫煙・飲酒への暴露が多量で、その結果、癌多発傾向を生じる可能性が高い。3) SIP1は上皮間葉移行を介して食道癌の進展に関与している。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to clarify the molecular mechanism of development and progression of upper-aerodigestive tract (UADT: head and neck and esophagus) cancer induced by cigarette smoking and alcohol drinking, paying special attention to multi-centric carcinogenesis.

Conclusions: 1) Both smoking and drinking may induce DNA global hypomethylation, which relates to multi-centric carcinogenesis of the esophagus. 2) Both heavy smoking and heavy drinking are frequently observed patients younger than 50 years compared with elder patients with esophageal cancer. These habits may relate to multiple occurrence of UADT cancer in young patients. 3) SIP1, one of the molecules involved in the epithelial-mesenchymal transition, is correlated with progression of esophageal cancer.

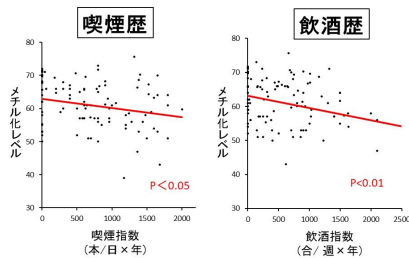
研究分野：消化器外科

キーワード：食道癌 頭頸部癌 喫煙 飲酒 癌抑制遺伝子 メチル化 上皮間葉移行 重複癌

1. 研究開始当初の背景

1) 肺、気管支、頭頸部、食道等の上部気道・消化管 (Upper aerodigestive tract: UADT) の発癌における喫煙、飲酒の関与は大きい。
 2) 食道癌では食道内多発癌、頭頸部癌の合併を高頻度に認め、我々は UADT における多中心性発癌を支持してきた。さらに、食道癌発生に、喫煙、飲酒が相乗的に関連するとともに (Morita et al, Surgery 2002)、過度の喫煙、飲酒が UADT の多中心性発癌に関与していることをより明らかにしてきた。(Morita et al, Int J Clin Oncol 2010)。
 3) 外的要因や体内で発生した酸化ストレスは DNA に作用して発癌を促す。我々は食道癌症例において、酸化ストレスのマーカーやその修復系を検討し、喫煙や DNA 修復機構の障害は酸化的 DNA 損傷をもたらし、食道癌の発癌進展に関与している可能性を報告した。(Kubo et al. Dis Esophagus 2014)
 4) 我々は、喫煙・飲酒などによる慢性炎症に伴うゲノムワイドな低メチル化が染色体不安定性を引き起こし、食道発癌に関与するとともに、癌関連遺伝子の異常を惹起し癌の進行にも関与することを報告した。(図 1, Kawano et al. Ann Surg Oncol 2014)

【図1】非癌部におけるLINE-1のメチル化と喫煙および飲酒



2. 研究の目的

食道癌の発生・進展過程にける喫煙・飲酒が惹起する分子生物学的機序を明らかにすることを目的に、酸化的 DNA 損傷、ゲノムワイドなメチル化異常、上皮間葉移行との関連に着目し検討する。さらにこれらを難治性の食道癌・頭頸部癌の予防、治療効果の予測につなげることを目的とする。

1) LINE-1 メチル化と癌多発の関係

ゲノムワイドな DNA 低メチル化は染色体不安定性と関連し、腫瘍形成において重要な役割を担っている。長鎖散在反復配列 Long interspersed element 1 (LINE-1) のメチル化状態は、ゲノムワイドな DNA メチル化の状態を表すのに有用とされている。今回、頭頸部・食道領域における喫煙・飲酒などの環境因子の暴露による扁平上皮癌の癌多発にゲノムワイドな DNA メチル化低下が関与するか否かを検討した。

2) 若年発症食道癌と環境因子、癌多発

食道癌は一般的に高齢者に多くみられるが、若年者にも散見される。若年者に発生する癌は特殊な遺伝的因子や過剰な環境因子への暴露が関与する可能性がある一方で、しばしば癌の多発傾向がある。しかし、食道癌にお

いてはリスク因子や多発癌との関連は明らかでない。我々は、若年発症食道癌における環境因子の関与、癌多発の実態を明らかにすることを目的に検討を行った。

3) 食道癌進展と上皮間葉移行 (EMT)

食道癌の浸潤、転移の過程において癌細胞の EMT はきわめて重要な事象である。SIP1 は EMT 関連タンパクであるが食道癌においてその意義は明らかでない。

3. 研究の方法

1) LINE-1 メチル化と癌多発の関係

食道全割標本をもとに食道内の癌多発を検討し LINE-1 のメチル化との相関を検討した。一方、食道癌 36 例のルゴール染色による内視鏡所見をもとに、癌多発を反映する多発ルゴール不染帯 (multiple lugol voiding lesion: MLVL “まだら食道”: 食道長 3cm あたり淡染色または不染帯を 10 個以上認めるもの) と LINE-1 メチル化の関係も検討した。

2) 若年発症食道癌と環境因子、癌多発

食道切除術切除例 384 例を対象とし、全割切片を鏡検し、食道微小癌を含め、食道内癌多発を病理組織学的に検索。頭頸部食道領域の癌多発および喫煙・飲酒の暴露を、若年発症症例 (50 歳未満、24 名) を対照群 (50 歳以上 360 名) に比較し比較検討した。

3) 食道癌進展と上皮間葉移行 (EMT)

食道扁平上皮癌細胞株 TE1, TE2, TE5, TE8 を用い real time PCR 法にて SIP-1、E-cadherin の発現を検討した。さらに、食道癌切除標本において免疫組織学染色にて SIP-1、E-cadherin の発現を検討した。

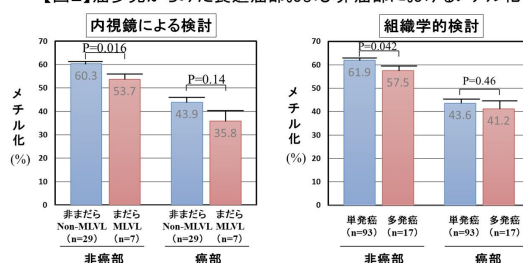
4. 研究成果

1) LINE-1 メチル化と癌多発の関係

食道扁平上皮癌症例の癌部における LINE-1 メチル化レベルは、非癌部に比べては有意に低値であった。非癌部における LINE-1 メチル化レベルはまだら食道 (MLVL) 症例で非まだら食道 (non-MLVL) 症例に比べ有意に低値であったが、癌部のメチル化では有意差は認めなかった。一方、組織学的な検索の結果においても、多発癌症例の非癌部における LINE-1 メチル化レベルは多発癌症例に比べ有意に低値であった (図 2)。先行する研究にて、非癌部のメチル化が喫煙歴・飲酒歴と逆相関を認めた (図 1)。以上より、喫煙・飲酒が惹起する正常食道粘膜のメチル化低下が “発癌の場” を形成し、多発癌の発生過程に関与している可能性が示唆された。

(河野ら、第 117 回日本外科学会、2017)

【図2】癌多発からみた食道癌および非癌部におけるメチル化



2) 若年発症食道癌と環境因子、癌多発食道若年群(50歳未満)は頭頸部癌併発を29%に認め、対照群より有意に多く、また食道内多発癌も若年群33%と対照群13%に対し多かった。さらに、若年発症の頭頸部癌併発例は、重喫煙者あるいは大酒家であり、7例中4例に食道にも多発癌を認めた。したがって、食道癌においては比較的頻度の低い若年発症には若年時からのこれらの環境因子への暴露がより強く、その結果として癌多発の傾向を生じる可能性が高いと考えられた。

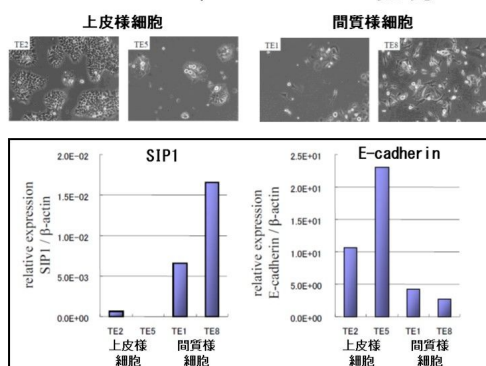
(Kasagi, Morita, et al. Ann Surg Oncol 2015)

3) 食道癌進展と上皮間葉移行(EMT)

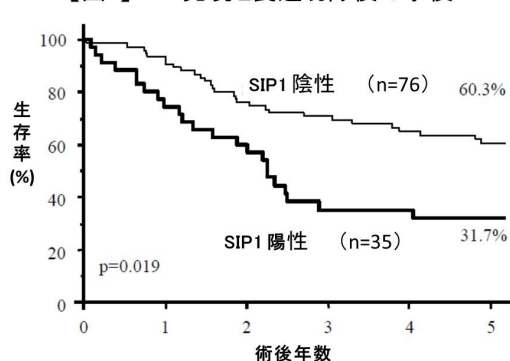
細胞株を用いた検討: 上皮様形態(EMT陰性)の細胞株(TE2, TE5)ではSIP1は低発現で、E-cadherinは高発現であったのに対し、間質様形態(EMT陽性)の細胞株(TE1, TE8)ではSIP1は高発現で、E-cadherinは低発現であった(図3)。臨床標本を用いた検討: SIP1発現は上皮マーカーE-cadherinと逆相関し、病理学的には脈管侵襲、リンパ節転移と相関するとともに予後不良因子であった(図4)。以上よりSIP1はEMTを介して、食道癌の進展に關与すると考えられた。

(Yoshida, Morit, et al. Ann Surg Oncol 2015)

【図3】食道癌細胞株におけるSIP1, E-cadherinの発現



【図4】SIP1発現と食道切除後の予後



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30件)

1. Morita M, Saeki H, Oki E, 他3名. うち4番目. Tracheobronchial fistula during the perioperative period of esophagectomy for esophageal cancer. World J Surg. 査読有, 39. 2015. pp.1119-1126
2. Kasagi Y, Morita M, Otsu H, 他8名. うち9・10番目. Clinicopathological characteristics of esophageal squamous cell carcinoma in patients younger than 50 years. Ann Surg Oncol. 査読有, 22. 2015. pp311-315
3. Yoshida R, Morita M, Shoji F, 他10名. うち9・10番目. Clinical significance of SIP1 and E-cadherin in patients with esophageal squamous cell carcinoma. Ann Surg Oncol. 査読有, 22. 2015. pp2608-14
4. Ando K, Oki E, Saeki H, 他9名. 11番目. Discrimination of p53 immunohistochemistry-positive tumors by its staining pattern in gastric cancer. Cancer Med. 査読有, 4. 2015. pp75-83
5. Nishimura S, Saeki H, Nakanoko T, 他12名. うち11・14番目. Hyperthermia combined with chemotherapy for patients with residual or recurrent oesophageal cancer after definitive chemoradiotherapy. Anticancer Res. 査読有, 35. 2015. pp2299-303
6. Otsu H, Oki E, Ikawa-Yoshida A, 他10名. うち9・10番目. Correlation of HER2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in resectable gastric cancer. Anticancer Res. 査読有, 35. 2015. pp2441-6
7. Oki E, Ando K, Saeki H, 他9名. うち10番目. The use of a circular side stapling technique in laparoscopic low anterior resection for rectal cancer: experience of 30 serial cases. Int Surg. 査読有, 2015. pp979-83
8. Yukaya T, Saeki H, Kasagi Y, 他7名. うち8・9番目. Indocyanine green fluorescence angiography for quantitative evaluation of gastric tube perfusion in patients undergoing esophagectomy. J Am Coll Surg. 査読有, 2015. pp37-42
9. Kiyonari S, Imori M, Matsuoka K, 他11名. うち8・10・11番目. The 1,2-diaminocyclohexane carrier ligand in oxaliplatin induces p53-dependent transcriptional repression of factors involved in thymidylate biosynthesis. Mol Cancer Ther. 査読有, 14. 2015. pp2332-42

10. Yamamoto M, Kawano H, Yamaguchi S, 他7名.うち4・8・9番目. Comparison of neoadjuvant chemotherapy to surgery followed by adjuvant chemotherapy in Japanese patients with peritoneal lavage cytology positive for gastric carcinoma. *Anticancer Res*. 査読有,35,2015,pp4859-63
11. Hisamatsu Y, Tokunaga E, Yamashita N, 他8名.うち10番目. Impact of GATA-3 and FOXA1 expression in patients with hormone receptor-positive/HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer*. 査読有,22,2015,pp520-8
12. Tsuda Y, Morita M, Saeki H,他10名.うち7番目. Esophagectomy-related thoracic duct injury detected by lymphoscintigraphy with ^{99m}Tc-diethylenetriamine pentaacetic acid-human serum albumin: report of a case. *Surg Today*. 査読有,45,2015,pp517-521
13. Morita M, Saeki H, Nakaji Y, 他7名.うち7・8番目. Conversion to neuroendocrine carcinoma from squamous cell carcinoma of the esophagus after definitive chemoradiotherapy. *Anticancer Res*. 査読有,36,2016,pp4045-4049
14. Iwanaga A, Egashira A, Minami K,他10名.うち4・6・12番目. Evaluation of esophageal and airway stent placement for patients with advanced and recurrent esophageal cancer. *Esophagus*. 査読有,13,2016,pp283-289
15. Ito S, Okano S, Morita M,他11名.うち4・11番目. Expression of PD-L1 and HLA Class I in esophageal squamous cell carcinoma: Prognostic factors for patient outcome. *Ann Surg Oncol*. 査読有,23,2016,pp508-515
16. Sugiyama M, Okii E, Nakaji Y,他14名.うち12・15番目. High expression of the Notch ligand Jagged-1 is associated with poor prognosis after surgery for colorectal cancer. *Cancer Sci*. 査読有,107,2016,pp1705-16
17. Otsu H, Imori M, Ando K,他8名.うち4・7・10番目. Gastric Cancer Patients with High PLK1 Expression and DNA Aneuploidy Correlate with Poor Prognosis. *Oncology*. 査読有,91,2016,pp31-40
18. Okumura H, Mori N, Tanaka T,他10名.うち7番目. Clinical features and treatment of patients with esophageal cancer and a history of gastrectomy: a multicenter, questionnaire survey in Kyushu, Japan. *Dis Esophagus*. 査読有,29,2016,pp1135-43
19. Morita M, Egashira A, Nakaji Y,他9名.うち12番目. Treatment of squamous cell carcinoma of the esophagus synchronously associated with head and neck cancer. *In Vivo*. 査読有,31,2017,pp909-916
20. Morita M, Ikebe M, Kagawa M,他12名.うち11番目.12番目.14番目. Current treatment and application of hyperthermia for squamous cell carcinoma of the esophagus. *Thermal Med*. 査読有,33,2017,pp63-73
21. Minami K, Morita M, Emi Y,他15名.うち13番目. Final report of KSCC0803: feasibility study of capecitabine as adjuvant chemotherapy for stage III colon cancer in Japan. *Int J Clin Oncol*. 査読有,22,2017,pp505-10
22. Egashira A, Morita M, Kumagai R, 他7名.うち10番目. Neuroendocrine carcinoma of the esophagus: Clinicopathological and immunohistochemical features of 14 cases. *PLoS One*. 査読有,12(3):e0173501,2017
23. Miyazaki T, Kitagawa Y, Kuwano H, 他19名.うち9番目. Decreased risk of esophageal cancer owing to cigarette and alcohol cessation in smokers and drinkers: a systematic review and meta-analysis. *Esophagus*. 査読有,14,2017,pp290-302
24. Tsutsumi S, Saeki H, Nakashima Y, 他6名.うち5・6番目. Programmed death-ligand 1 expression at tumor invasive front is associated with epithelial-mesenchymal transition and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. 査読有,108,2017,pp1119-1127
25. Yamamoto M, Kawano H, Yamaguchi S, 他5名.うち4・6・8番目. Technical and survival risks associated with esophagojejunostomy by laparoscopic total gastrectomy for gastric carcinoma. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 査読有,27,2017,pp197-202
26. 森田勝, 上江洌一平, 河野浩幸, 他9名.うち8・10・11番目. 食道癌による食道気道瘻に対する外科的治療戦略. *日本気管食道学会誌*. 査読有,67,2016,pp141-3
27. 森田勝, 河野浩幸, 吉田大輔, 他7名.うち7・8・9番目. 高齢者における外科治療の低侵襲化と至適管理. *日本外科学会雑誌*. 査読有,117,2016,pp166-173
28. 池部正彦, 吉田大輔, 太田光彦, 他4名.うち6・7番目. 食道癌術後経過観察中に診断された重複癌の検討. *日気食会報*. 査読有,68,2017,pp89-91

- 29.太田光彦、池部正彦、森田勝、他5名。
うち4・8番目。
頸部食道胃吻合：三角吻合。
臨床外科.査読無,72,2017,pp402-4

〔学会発表〕(計18件)

- 1.森田勝、咽・喉頭・食道全摘術の工夫とハイリスク症例に対する適応拡大、第115回日本外科学会、2015年4月16日-18日、名古屋
- 2.江頭明典、食道癌に対する緩和医療と外科治療の関わり、第115回日本外科学会、2015年4月16日-18日、名古屋
- 3.森田勝、進行食道癌に対する術前化学療法および術前化学放射線療法の功罪、第69回日本食道学会、2015年7月2日-3日、横浜
- 4.森田勝、頭頸部・食道重複癌に対する食道切除術における合併症軽減にむけた工夫、第70回日本消化器外科学会、2015年7月15日-17日、浜松
- 5.江頭明典、食道癌根治切除術後の再発様式および治療成績についての検討、第70回日本消化器外科学会、2015年7月15日-17日、浜松
- 6.森田勝、cT4 食道癌に対する化学放射線療法：根治的 CRT および down-staging 後の切除の意義、第23回日本消化器関連学会週間 JDDW2015、2015年10月8日-11日、東京
- 7.Morita M, Therapeutic strategies for synchronous esophageal cancer and head and neck cancer、International Society for Diseases of the Esophagus (ISDE)15th World Congressvv、2016年9月19日-21日、Singapore
- 8.森田勝、食道・頭頸部同時性重複癌に対する治療成績の検討、第116回日本外科学会、2016年4月14日-16日、大阪
- 9.森田勝、食道胃接合部腺癌のリンパ節転移および再発形式に関する検討、第70回日本食道学会、2016年7月4日-6日、東京
- 10.森田勝、胃切除後食道癌に対する右結腸再建の成績およびハイリスク症例への二期手術の応用、第71回日本消化器外科学会、2016年7月14日-16日 徳島
- 11.森田勝、高度進行食道癌に対するバイパス術、ステント挿入の意義、第24回日本消化器関連学会週間 JDDW2016、2016年10月3日-6日、神戸
- 12.森田勝、食道・頭頸部ならびに胃における癌多発のリスクファクターに関する疫学的検討、第117回日本外科学会、2017年4月27日-29日、横浜
- 13.河野浩幸、まだら食道と食道多発癌におけるLINE-1メチル化の検討、第117回日本外科学会、2017年4月27日-29日、横浜
- 14.池部正彦、頭頸部外科、形成外科との共同による頸部食道癌手術、第117回日本外科学会、2017年4月27日-29日、横浜
- 15.森田勝、同時性食道・頭頸部重複癌の治

- 療戦略：同時根治的 CRT および一括切除の検討、第71回日本食道学会、2017年6月15日-16日、軽井沢
- 16.森田勝、食道胃接合部癌のリンパ節転移・再発形式からみた外科的治療戦略、第72回日本消化器外科学会、2017年7月20日-22日、石川
 - 17.森田勝、食道神経内分泌癌19例の臨床病理学的特徴と治療成績、第25回日本消化器関連学会 JDDW2017、2017年10月12日-15日、福岡
 - 18.益田宗幸、発声機能の温存が求められた進行頸部食道癌症例に対する治療経験、第69回日本気管食道科学会、2017年11月8日-9日、大阪

〔図書〕(計1件)

- 1.藤也寸志、森田勝、他3名、食道癌表在癌マクロとミクロの接点 同時性多発食道表在癌(7重癌)症例、中外医学社、2015

〔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

- 1)独立行政法人国立病院機構九州がんセンター<https://www.ia-nkcc.jp/>
- 2)九州大学大学院 消化器・総合外科
<http://www.kyudai2geka.com/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

森田 勝 (Morita, Masaru)
国立病院機構九州がんセンター
臨床研究センター 統括診療部長
研究者番号：30294937

(2)研究分担者

藤 也寸志 (Toh, Yasushi)
国立病院機構九州がんセンター
臨床研究センター 院長
研究者番号：20217459

益田 宗幸 (Masuda, Muneyuki)
国立病院機構九州がんセンター
臨床研究センター 頭頸科部長
研究者番号: 90284504

沖 英次 (Oki, Eiji)
九州大学・大学病院 准教授
研究者番号: 70380392

佐伯 浩司 (Saeki, Hiroshi)
九州大学・大学病院 講師
研究者番号: 80325448

江頭 明典 (Egashira, Akinori)
国立病院機構別府医療センター
臨床研究部 消化器外科
研究者番号: 00419524