

令和元年6月17日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17260

研究課題名(和文) 口腔多発癌の変異細胞不均一性とエピジェネティック異常の検討

研究課題名(英文) Study of heterogeneity and epigenetic dysregulation of oral multiple cancer.

研究代表者

今城 育美 (Imajo, Ikumi)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：40636552

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：多発癌の変異細胞の解析に先立ち、まず、口腔多発癌の臨床的特徴を検討し、以下の結果を得た。1) 当科で扁平上皮癌と診断されたもののうち、多発癌は6.4%であった。2) 多発癌では単発癌と比較して発症年齢が高く、発症部位は歯肉に多かった。3) 多発癌では早期症例が多かった。4) 多発癌では粘膜病変の併発が多かった。5) 口腔癌発症のリスク因子とされる喫煙や飲酒は、多発癌発症との関連は明らかではなかった。6) 多発癌では長期予後が悪かった。7) 多発癌と単発癌でp53の発現様式の特徴的な差は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発癌は予後が不良である。生存率向上のために、早期に解決すべき課題は新たな癌発生のリスクを正確に評価するバイオマーカーの発見と考える。悪性化のリスクを正確に評価するバイオマーカーができれば、癌が発生する前に予防切除することが可能になる。

本研究では多発癌と単発癌の臨床的特徴の違いを検討した。粘膜病変の存在は多発癌のマーカーと考えられた。今後は扁平上皮癌での変異が多く報告されているp53とその他のタンパクやエピジェネティック異常を組み合わせるバイオマーカーとしての使用が確立されたら、多数の患者の予後に改善が見込める可能性があると考えられる。

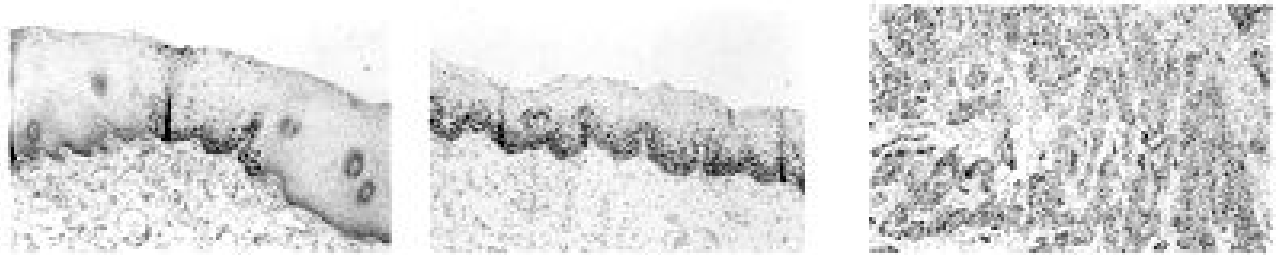
研究成果の概要(英文)：Before analysis of mytamt cells, clinical characteristics of multiple oral cancer were examined. The following results were obtained. 1) Multiple oral cancer patients were observed in 6.4% of squamous cell carcinoma patients diagnosed in our department. 2) With respect to primary sites, gingiva were significantly more frequent in the multiple cancer group. 3) There were more cases in early stage in multiple cancer group. 4) The incidence of mucosal lesions was significantly higher in the multiple cancer group. 5) Smoking and alcohol consumption, which are considered risk factors for oral cancer, were not clearly related to development of multiple cancer. 6) The long-term prognosis was poor in multiple cancers. 7) There were no differences in p53 expression between multiple and single cancer group.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔多発癌 Field cancerization p53

1. 研究開始当初の背景

近年、さまざまな領域における多発癌の報告が散見されるが、当施設でも口腔多発癌症例にしばしば遭遇し、その治療に難渋する。口腔周囲には生命維持や機能温存、審美性保存に必要な解剖学的組織が多数あり、安易な拡大切除が困難である。当施設では、口腔癌取扱規約に従い臨床上の腫瘍から安全域を 10mm 設けて切除を行っており、切除断端に異型上皮が存在することも多い。しかし、この切除断端の異型上皮に対する追加切除の適応は一定の見解がなく、異形の程度に応じてリスクを評価し経過観察を行っているのが現状である。多数の患者はその安全域設定で新たな腫瘍発生を認めないが、ある一部の患者では二次原発癌が同時性もしくは異時に連続性を持たずに多発する。口腔内多発癌発生の機序については **Field cancerization theory (広域発癌)** (Slaughter et al. 1953) で説明され、癌誘発因子への暴露により、点ではなく広範な領域に組織的な細胞異型領域 (Field) が発生し、そこからさらに暴露が蓄積することで Field 内に multifocal な (多源性) 腫瘍が発生すると考えられている (図 1)。



Patch 形成

Field 形成

Carcinoma

幹細胞に変異が起こり、娘細胞によるモノクローナル領域を形成 (Patch 形成)

さらなる変異により増殖性を獲得し領域の側方への拡大 (Field 形成)

多領域での癌発生

図 1 . Field cancerization の概念 (Boudewijn, Cancer Res 63, 2003)

これまでに頭頸部癌の周囲粘膜における TP53 遺伝子不活性化などの突然変異 (ジェネティック異常) の存在 (Braakhuis BJ. Cancer Res. 2003) や、胃癌の周囲粘膜における DNA メチル化異常 (エピジェネティック異常) の存在 (Nakajima T. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2006) が報告され、それぞれが密接な関係にあると考えられている。また、Patch を形成する幹細胞や娘細胞が migration し field を形成する報告がある一方、腫瘍内ヘテロ不均一性 (intratumoral heterogeneity) の報告もされており、口腔癌における機序は明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では口腔多発癌における癌幹細胞とそれによる patch あるいは field の形成を確認し、そのエピジェネティックな異常および細胞の clonality について検討することを目的とした。これらが明らかになれば、発癌リスク診断への応用や、2 次発癌の予防、さらには脱メチル化剤の局所応用によるエピジェネティック異常に対する治療戦略の構築が可能となることが期待される。

3. 研究の方法

口腔多発癌の臨床的特徴を明らかにするために、まず、臨床病理組織学的な検討を行った。1983 年から 2017 年までに九州大学病院顔面口腔外科を受診し、口腔扁平上皮癌と診断された 686 名に対して後ろ向きに調査を行った。口腔内に二次癌発生を認めた 44 名を多発群、二次癌を認めなかった 642 名を単発群とした。それぞれについて年齢、性別、初発および新たな二次癌の発生部位、二次癌の発生までの期間、TNM 分類、病理組織的分化度、白板症や扁平苔癬様病変、紅板症などの口腔内粘膜病変の有無、治療法および予後について比較検討を行った。また、切除組織の最大断面における癌周囲粘膜上皮における p53 の発現および局在について検討を行った。統計学的解析は、初診時年齢については t 検定を使用し、性別、発生部位、TNM 分類、病理組織学的分化度、口腔内粘膜病変の有無、治療法については 2 検定、予後に関しては Kaplan-Meier 法による生存率算出とログランク検定にて有意差検定を行った。すべての統計解析には JMP®13 (SAS Institute Inc., NC, USA) を使用し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

なお、本研究は、当院における倫理審査委員会の承認を得て実施した (承認番号 2019-003)。

4. 研究成果

(1) 対象症例および患者背景

686名のうち、44名(6.4%)に二次癌の発生を認めた。男女比は単発群が1.36:1、多発群が1:1であった。初診時平均年齢は単発群で63.9±13.9歳、多発群で68.3±10.0歳であり、多発群は単発群に比較して有意に初診時年齢が高かった。

(2) 初発癌の発生部位

単発群では、発生部位が舌304例(47.4%)、歯肉197例(30.7%)、口底60例(9.3%)の順で多かった。多発群では同時性多発癌2例を含めた46例のうち、歯肉26例(56.5%)、舌10例(21.7%)、頬粘膜5例(10.9%)、口底および口唇2例(4.3%)、口蓋2例(2.2%)の順で多かった。多発群では単発群に比較して歯肉での発症が多かった(p=0.017)。

(3) 初発癌のTNM分類

初発癌のT分類は、単発群でT1-2が437例(68.1%)、T3-4が205例(31.9%)であったのに対し、多発群では、同時性多発癌2例を含めた46例のうちT1-2が39例(84.8%)、T3-4が7例(15.2%)と多発群で有意にT1-2が多かった(p=0.018)。N分類においては単発群でN1-3が143例(22.3%)であったのに対し、多発群で7例(15.2%)であり、統計学的な有意差は認められなかった。M分類にも統計学的な有意差は認められなかった。

(4) 初発癌の病理組織学的分化度

多発群で7例において初発癌の切除が他施設で行われており、詳細が不明であった。単発群では高分化型は471例(73.4%)、中分化型が150例(23.4%)、低分化型が14例(2.2%)であったのに対し、多発群では同時性多発癌2例を含めた46例のうち、高分化型31例(67.4%)、中分化型7例(15.2%)、低分化型1例(2.2%)であり、統計学的な有意差は認められなかった。

(5) 口腔内の粘膜病変

診療録や口腔内写真から、経過観察中に口腔内に粘膜病変が確認できたものは、単発群で97名(15.1%)、多発群で35名(79.5%)であり、多発群で有意に多かった(p<0.001)。粘膜病変のほとんどは病理組織診断がついていないものの、白板症様の厚い白斑病変や扁平苔癬様の発赤を伴うレース状白斑病変がほとんどであった。その割合は、単発群で白板症様66例(10.3%)、扁平苔癬様27例(4.3%)であったのに対し、多発群で白板症様13例(29.5%)、扁平苔癬様19例(43.2%)であった。

(6) 治療法

初回治療について、化学療法あるいは放射線治療などの根治的治療、または補助療法を行った患者は、単発群で300名(46.7%)、多発群で15名(34.1%)と統計学的な有意差は認められなかった。

(7) 疾患特異的生存率

疾患特異的5年生存率は単発群85.3%、多発群86.1%であり、疾患特異的10年生存率は単発群83.2%、多発群77.9%であった。5年、10年とも各群間の疾患特異的生存率に統計学的な有意差は認めなかった。しかしながら、疾患特異的20年生存率では単発群80.3%、多発群46.2%と、多発群では有意に生存率が低かった。

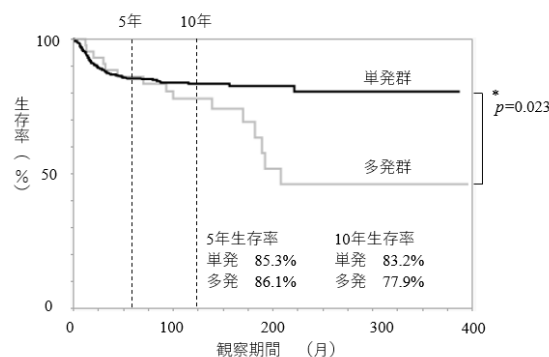


図2: 疾患特異的生存率曲線

(8) 癌周囲粘膜上皮におけるp53の発現様式
癌周囲粘膜上皮におけるp53免疫組織化学的染色において、p53陽性領域が切除断端まで広がる症例が認められたが、多発群と単発群間で傾向は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1) 当科における口腔多発癌に対する臨床病理組織学的検討
今城育美, 山田朋弘, 石井広太郎, 藤永貴大, 清島保, 森悦秀
日本口腔外科学会誌投稿中

〔学会発表〕(計 4 件)

- 1) Clinicopathological study of oral multiple cancer. (EP812)
Ikumi Imajo, Tomohiro Yamada, Kotaro Ishii, Tomoki Sumida, Wataru Kumamaru, Tamotsu Kiyoshima, Yoshihide Mori.
Asian Congress on Oral & Maxillofacial surgery, 2018.11.8-11 (11.11). Taiwan Taipei
- 2) 口腔多発腫瘍周囲上皮組織のField形成に関する臨床病理組織学的検討(P14-2)
今城育美, 山田朋弘, 石井広太郎, 小倉綾乃, 清島保, 森悦秀
第63回日本口腔外科学会総会 2018.11.2-4(11.2) 千葉幕張(幕張メッセ)
- 3) 当科における口腔多発腫瘍の臨床病理組織学的検討(2-B3-2)
今城育美, 山田朋弘, 石井広太郎, 小倉綾乃, 清島保, 森悦秀
第72回日本口腔科学会総会 2018.5.11-13(5.13) 愛知名古屋(ウインク愛知)

4) 当科における口腔扁平上皮癌一次症例の臨床統計学的検討 (1-P3-6)
小倉綾乃, 今城育美, 熊丸 渉, 石井広太郎, 大山順子, 住田知樹, 山田朋弘
第 36 回日本口腔腫瘍学会総会, 2018 年 1 月 25-26 日 (1.25) 新潟 (新潟グランドホテル)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：山田 朋弘

ローマ字氏名：YAMADA Tomohiro

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。