

平成21年6月1日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19791185

研究課題名（和文） 喉頭癌発生に関わる葉酸受容体の研究

研究課題名（英文） Study of folate receptor on the laryngeal cancer incidence

研究代表者

渡邊 健一（WATANABE KEN-ICHI）

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：10431579

研究成果の概要：

早期喉頭癌症例、喉頭白板症症例における血中葉酸値は、正常値より低値を示したが、両者群間に有意差はなかった。喉頭白板症症例の中で喫煙者と非喫煙者の群に分けると、有意差はないものの喫煙者群で低値を示す傾向があった。喉頭癌、喉頭白板症および正常声帯粘膜における葉酸受容体 FR- α の発現及び局在について検討するため、免疫組織染色法を行った。ポジティブコントロールとして用いた抗 CK19 抗体はいずれも上皮に発現を確認できたが、抗 FR- α 抗体はいずれの検体でも明確な発現が認められなかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,000,000	0	3,000,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	150,000	3,650,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：喉頭白板症、葉酸

1. 研究開始当初の背景

喉頭癌は頭頸部癌の中で最も頻度が高く、喉頭癌に罹患することは生命予後のリスクだけでなく、発声障害、呼吸障害、嚥下障害といった生活の質を低下させることにもつながる。また喉頭白板症は声帯粘膜上皮が肉眼的に白色に観察される臨床診断名であり、前癌病変とも考えられている。白板症の原因としては声帯に対する慢性刺激が考えられ

ており、特に喫煙が最も大きな誘因とされている。

水溶性ビタミン B 群の 1 種である葉酸は、補酵素として働き、アミノ酸や核酸合成の場に強く関わり、ヒトの癌の発生に予防的な効果があることが示唆されてきた。喉頭白板症から喉頭癌への化学的予防の可能性について臨床的な報告が散見できるが、喉頭における葉酸の基礎研究はほとんどされていない

のが現状である。

これまでに葉酸を細胞内へと取り込むための葉酸受容体 (Folate receptor FR) が 3 種類 (FR- α , FR- β , FR- γ) cloning されており、主に FR- α が、様々な上皮性腫瘍において、過剰発現していることが報告されている。血清から葉酸を取り込むこと、腫瘍の増大を調節するシグナルを生み出すことによって、腫瘍の増大に関与することが考えられている。

2. 研究の目的

(1) 喉頭癌、喉頭白板症、正常声帯粘膜、各々の組織における葉酸受容体 FR- α の発現局在、及び発現量を明らかにする

(2) 喉頭癌、喉頭白板症患者の血中葉酸値と、各々の組織における葉酸受容体 FR- α の発現量との相関を明らかにする

(3) 喉頭癌、喉頭白板症の組織における葉酸受容体 FR- α 発現量と喉頭癌病期および各々の疾患の経過・予後との相関を明らかにする

3. 研究の方法

(1) ヒト喉頭癌、喉頭白板症の診断・治療、および正常声帯粘膜を含む各組織の採取および切片標本化を行う

(2) 対象症例 (喉頭癌および喉頭白板症患者) を蓄積し、治療前血中葉酸値の測定、治療 (保存的治療、外科治療)、経過観察を行い、データベース化する

(3) ヒト喉頭癌組織、喉頭白板症組織、正常声帯粘膜組織、及びマウス正常喉頭組織を対象として、抗 FR- α 抗体を用いた免疫組織染色法を行い、FR- α 蛋白の発現局在を検討する

4. 研究成果

(1) 東北大学病院耳鼻咽喉・頭頸部外科喉頭外来において、平成 18 年 7 月から平成 19 年 6 月の 1 年間に早期喉頭癌 (Stage I または II) と診断した症例は計 21 例であった。性別は全て男性、全例喫煙歴あり、全例組織生検が行われた。治療としては 14 例に手術

(喉頭部分切除術、声帯レーザー切除術) が施行され、7 例には化学療法を併用または単独放射線治療 (照射総量 60-72Gy) が行われた。同時期において喉頭白板症と診断した症例は 16 例であった。性別は全て男性、14 例 (87.5%) に喫煙歴あり、9 例 (56.3%) に組織生検が行われた。治療としては 2 例のみに切除手術が行われ、その他は保存的治療として消炎治療、制酸剤投与あるいは経口葉酸投与などが行われた。

① 早期喉頭癌症例群 (21 例) において測定された血中葉酸平均値は 7.48 ± 2.71 ng/ml であり、喉頭白板症症例群 (16 例) では 7.59 ± 3.82 ng/ml であった (図 1)。

両群ともに一般正常値よりは低値を示したが、両群間に統計学的有意差は認めなかった。

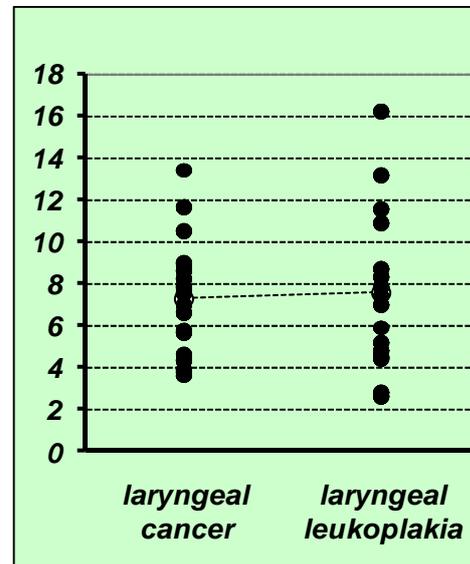


図 1 血中葉酸値比較 (喉頭癌症例、喉頭白板症症例)

② 喉頭白板症症例 16 例を、i) 喫煙者群 7 例と、ii) 非喫煙者群 9 例 (含む 2 年以上からの禁煙者 7 例) の 2 群に分けて検討した。血中葉酸平均値は前者 6.57 ± 4.63 ng/ml、後者 8.38 ± 3.11 ng/ml であった (図 2)。

両群間に統計学的有意差は認めなかったが、喫煙者群が低値を示す傾向があり、喫煙が血中葉酸濃度を低下させる可能性が示唆された。

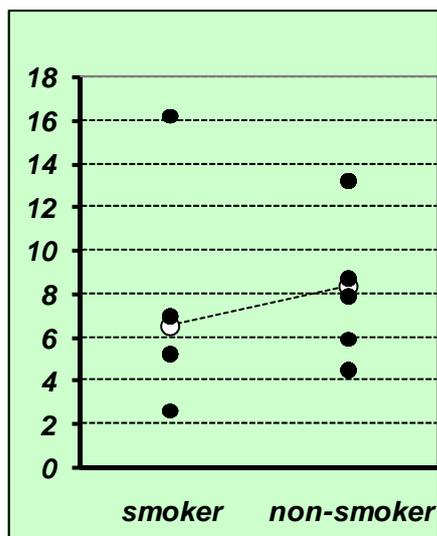


図2 血中葉酸値比較（喫煙者、非喫煙者）

(2) 喉頭白板症症例の追跡調査を行った。東北大学病院耳鼻咽喉・頭頸部外科教室喉頭外来において、平成9年1月から平成18年10月の間に、初診時に喉頭白板症と診断された症例は51例（男性47例、女性4例）であり、喫煙者は46例（88.2%）であった。27例（57.2%）は組織生検による病理診断が行われ、6例が悪性所見、10例が異形成、11例が良性所見（炎症9例、過形成2例）であった。組織生検で悪性所見が証明できた6症例を除く45例の経過観察中に、悪性腫瘍へと転化したと考えられた症例が2例観察できた。また22例に対して経口葉酸投与の治療が行われたが、その効果については確認できなかった。

前癌病変として、喉頭白板症の経過観察には十分な注意が必要である。

(3) 早期喉頭癌症例の追跡調査を行った。東北大学病院耳鼻咽喉・頭頸部外科教室において1994年1月から2005年12月の間に、358例（男性346例、女性12例）の喉頭癌の一次治療を行った。T1症例104例に対して、手術療法（レーザー声帯切除術、喉頭部分切除術）が33例、化学療法を併用または単独放射線治療が69例に行われた。T2症例100例に対して、手術療法が10例、化学療法を併用または単独放射線治療が90例に行われた。喉頭温存率はT1症例が93.1%、T2症例が77.1%であった。Stage別疾患特異的5年生存率は、Stage Iが95.9%、Stage IIが91.3%であった。当科における治療成績は、近年の他施設からの報告と比較し差を認めなかった。

(4) 全身麻酔下に喉頭微細手術が行われた症例において、同意が得られた喉頭癌症例2例（病理組織：扁平上皮癌）、喉頭白板症症例1例（病理組織：過形成と角化症）より組織標本を採取した（対照用の正常声帯粘膜組織を含む）。検体はパラホルムアルデヒド固定後に脱水処理し、パラフィン切片に包埋され薄切切片として用いた。免疫染色法はDAB発色で検出するDAKO Envisionシステムを使用した（Envision Plus Method by T. Kikuchi, 2000）。

①ポジティブコントロールとして、上皮細胞に発現するCK19タンパクに対する抗体を用いた。抗CK19抗体は扁平上皮癌、喉頭白板症組織、正常粘膜組織いずれも上皮に発現を確認でき、組織切片としての妥当性が証明できた。

②抗FR- α 抗体は免疫組織染色用抗体を購入し使用、抗CK19抗体と同様の手技・手順で実験を進めた。抗原賦活化（オートクレーブ処理）や抗体希釈濃度の調整、DAB発色時間の延長等を行ったが、いずれの検体でも明確な発現が認められなかった。組織のポジティブコントロールとして他臓器上皮性腫瘍の使用、抗FR- α 抗体の変更、in-situ hybridizationの様な分子生物学的手法などの検討が今後必要である。

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0件）

〔学会発表〕（計3件）

①渡邊健一、香取幸夫、白渕肇、小林俊光
「当科における喉頭白板症症例の検討」
第108回日本耳鼻咽喉科学会総会学術講演会
（2007年5月18日、金沢）

②白渕肇、香取幸夫、渡邊健一、小林俊光
「東北大学病院における外来での声帯手術」
第108回日本耳鼻咽喉科学会総会学術講演会
（2007年5月18日、金沢）

③白渕肇、香取幸夫、志賀清人、小川武則、渡邊健一、小林俊光
「当科における喉頭癌臨床統計」
第19回日本喉頭科学会総会学術講演会
（2007年3月9日、神戸）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 健一 (WATANABE KEN-ICHI)

東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：10431579