

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861704

研究課題名(和文)全ゲノムコピー数解析による口腔癌リンパ節転移の被膜外浸潤のメカニズム解明

研究課題名(英文) Mechanism of extracapsular invasion of oral cancer lymph node metastasis by whole genome copy number analysis

研究代表者

炭野 淳 (Sumino, Jun)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：30634109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌症例のうち頸部リンパ節転移を生じたものなかで、ECS陽性および陰性群にわけた。対象症例に関して、原発巣のFFPEサンプルからgenomic DNAを抽出し、それをを用いてOncoScan FFPE assayにより全ゲノムコピー解析を行った。このSNPアレイによって、各サンプルにおけるコピー数の増加、減少およびLOHを示す染色体領域を同定した。

ECS陽性群と陰性群の間で比較検討することで、ECS陽性群に特異的なコピー数変異の同定を行った。ECS陽性群と陰性群の間で、CANの分布が異なることが示された。

研究成果の概要(英文)：Among oral carcinoma cases, those who developed cervical lymph node metastasis were divided into ECS positive and negative groups. Genomic DNA was extracted from the primary FFPE sample of the target case and the whole genome copy analysis was performed by using OncoScan FFPE assay. With this SNP array, chromosomal regions showing increase, decrease and LOH of copy number in each sample were identified. By comparing and examining between ECS positive group and negative group, identification of copy number variation specific to ECS positive group was carried out. The distribution of CAN was different between the ECS positive group and the negative group.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔癌 原発巣 頸部リンパ節転移 被膜外浸潤 FFPE OncoScan 全ゲノムコピー数

1. 研究開始当初の背景

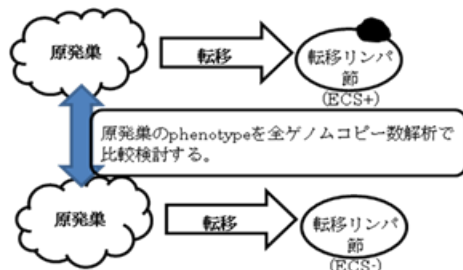
口腔癌の治療成績のさらなる向上には、重要な予後因子とされる頸部リンパ節転移の制御が極めて重要だとあると思われる。また、転移リンパ節に被膜外浸潤(ECS)を認めた症例は予後不良となる。NCCN ガイドラインでも、ECSは術後治療を選択する基準になっている。しかし、今現在は、ECSの有無を術前に予測する有用な手段はなく、頸部郭清術後にしか判らない。また、当科の口腔癌 127 症例を対象した研究では、 Kaplan-Meier 法 (図 1)により ECS が頸部リンパ節転移の有無以上に重要な予後因子であることが明らかとなっているように、ECSを認めた症例についてさらに詳細な分類法が必要と考えられる。

ECS が起こるまでのメカニズムについては、1963 年に Toker らに報告されて以来、新たな分類法は報告されていない。

2. 研究の目的

今回の研究の目的は、原発巣を比較することで (原発巣の DNA の phenotype によって、転移しやすさ、さらには ECS を起こすことを運命づけられていると仮定) ECS の新たな分類、ECS のメカニズムの解明、足がかりとなるであろうデータを得ることである。さらには、術前に ECS が予想できないか検討をする。

3. 研究の方法

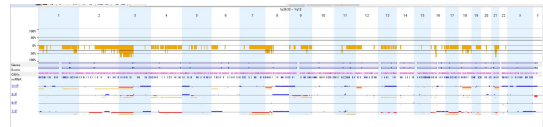
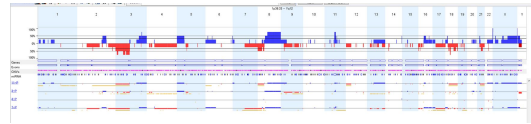


舌癌の ECS+ の 4 症例と ECS- 4 症例のホルマリン固定パラフィン包埋組織 (FFPE) サンプルから、gDNA を抽出した。抽出した gDNA を OncoScan で解析を行い、ECS のある症例とない症例の口腔癌原発巣の全ゲノムコピー数とヘテロ接合性の消失 (LOH) のプロファイルを得た。

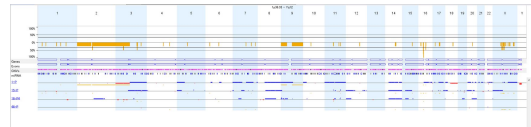
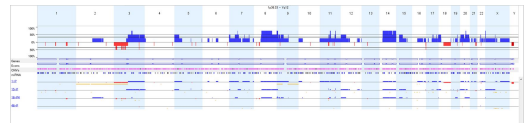
4. 研究成果

OncoScan の結果

ECS+ 4 症例



ECS- 4 症例



OncoScan の結果より、ECS+ と ECS- 群の間で、CNA の分布が異なることが、判明した。現在は、症例数を増やして、再解析をするところである。

チェックポイント関連遺伝子の発現と、各症例の臨床・病理組織学的情報との癌の増殖、進展、転移など関わる可能性のある候補遺伝子群を選びだし、その候補遺伝子に対し、FISH 法、real-timePCR 法、免疫組織化学染色を用い、発現、代謝の量的解析を行う予定である。このことから、頸部リンパ節転移の被膜外浸潤 (ECS) のメカニズムを解明する。また、全ゲノムコピー数解析に使用した症例の、転移リンパ節に対し、H-E 染色、候補遺伝子群の免疫組織化学染色を行い、頸部リンパ節転移の被膜外浸潤 (ECS) の新たな分類を検討する予定である。

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 4 件)

J. Sumino, N. Uzawa, Y. Ohyama, Y. Michi, A. Kawamata, M. Mizutani, M. Yamashiro. First signs of late-presenting cervical lymph node metastasis in oral cancers during follow-up. *Int J Oral Maxillofac Surg* 査読あり 2017.46(6):676-681. (IF: 1.56, doi: 10.1016/j.ijom.2017.02.006)

鷗澤 成一, 森田 琢磨, 星 玲子, 赤津

千絵, 道 泰之, 大山 巖雄, 炭野 淳, 名生 邦彦, 山城 正司. 口腔癌頸部リンパ節転移被膜外浸潤陽性症例の予後因子に関する検討. 頭頸部癌 査読あり。

2016;42:400-405

Morita T, Uzawa N, Mogushi K, Sumino J, Michikawa C, Takahashi KI, Myo K, Izumo T, Harada K. Characterizing Genetic Transitions of Copy Number Alterations and Allelic Imbalances in Oral Tongue Carcinoma Metastasis. Genes Chromosomes Cancer 査読あり 2016. 55(12):975-986. doi: 10.1002/gcc.22395

Moriya Y, Uzawa N, Morita T, Mogushi K, Miyaguchi K, Takahashi K, Michikawa C, Sumino J, Tanaka H, Harada K. The high-temperature requirement factor A3 (HtrA3) is associated with acquisition of the invasive phenotype in oral squamous cell carcinoma cells. Oral Oncology 査読あり 2015. 51(1):84-9 doi: 10.1016/j.oraloncology.2014.10.001.

〔学会発表〕(計 16 件)

1. 大山 巖雄, 道 泰之, 鶴澤 成一, 名生 邦彦, 炭野 淳, 三浦 千佳, 水谷 美保, 栢森 高, 山城 正司, 山口 聰: 当科で経験した上顎歯肉扁平上皮癌 91 症例の臨床病理組織学的検討. 第 35 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 2017 年 1 月 26-27 日、福岡国際会議場(福岡県福岡市)
2. 赤津 千絵, 鶴澤 成一, 炭野 淳, 大山 巖雄, 道 泰之, 山口 聰: 同時性または異時性両側頸部リンパ節転移を認めた症例に対する臨床的検討. 第 35 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 2017 年 1 月 26-27 日、福岡国際会議場(福岡県福岡市)
3. 鶴澤 成一, 森田 琢磨, 星 礼子, 道 泰之, 大山 巖雄, 炭野 淳, 名生 邦彦, 山口 聰: 口腔癌頸部リンパ節転移被膜外浸潤陽性例の予後因子に関する検討. 第 40 回日本頭頸部癌学会 2016 年 6 月 9-10 日、ソニックシティ(埼玉県大宮市)
4. 炭野 淳, 遠山 怜, 鶴澤 成一, 出雲 俊之, 山口 聰: 左頬部に生じた結節性筋膜炎の 1 例. 第 70 回日本口腔科学会・学術集会、2016 年 4 月 16 - 17 日、福岡国際会議場(福岡県福岡市)
5. 鶴澤 成一, 森田 琢磨, 星 礼子, 道 泰之, 大山 巖雄, 炭野 淳, 名生 邦

- 彦, 原田 清: 口腔癌頸部リンパ節転移被膜外浸潤陽性例に関する臨床的検討. 第 34 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 2016 年 1 月 21-22 日、横浜市開港記念会館(神奈川県横浜市)
6. 大山 巖雄, 川俣 綾, 道 泰之, 鶴澤 成一, 水谷 美保, 名生 邦彦, 炭野 淳, 三浦 千佳, 山城 正司, 栢森 高, 原田 清: 局所制御下に肺転移を生じた口腔扁平上皮癌症例の臨床的検討. 第 60 回日本口腔外科学会総会 2015 年 10 月 16 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)
 7. Chieko Michikawa, Narikazu Uzawa, Jun Sumino, Takuma Morita, Yasuyuki Michi, Yoshio Ohyama, Kunihirom Myo, Toshiyuki Izumo, Akira Yamaguchi, Kiyoshi Harada. Classification of extracapsular spread of the lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. 第 39 回日本頭頸部癌学会、第 4 回アジア頭頸部癌学会 2015 年 6 月 4 日、神戸国際会議場(兵庫県神戸市)
 8. 鶴澤 成一, 高橋 謙一郎, 森田 琢磨, 名生 邦彦, 道川 千絵子, 炭野 淳, 原田 清: 遺伝的相同性を指標にした口腔癌リンパ節転移経路の解明. 第 33 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 2015 年 1 月 29 日、奈良県新公会堂(奈良県奈良市)
 9. 道川 千絵子, 鶴澤 成一, 炭野 淳, 森田 琢磨, 道 泰之, 大山 巖雄, 名生 邦彦, 出雲 俊之, 山口 朗, 原田 清: 被膜外浸潤の新分類についての検討. 第 33 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会 2015 年 1 月 29 日、奈良県新公会堂(奈良県奈良市)
 10. 中里 桂一郎, 鶴澤 成一, 栢森 高, 炭野 淳, 赤津 千絵, 大山 巖雄, 山口 聰: 当科における骨関連病変に関する臨床的検討. 第 61 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2014 年 11 月 25-27 日、幕張メッセ国際会議場・国際展示場(千葉県千葉市)
 11. 鶴澤 成一, 道川 千絵子, 炭野 淳, 森田 琢磨, 高橋 謙一郎, 道 泰之, 大山 巖雄, 名生 邦彦, 原田 清: 口腔癌頸部リンパ節転移被膜外浸潤の新たな分類に関する検討. 第 59 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2014 年 10 月 17 日、幕張メッセ国際会議場・国際展示場(千葉県千葉市)
 12. 天笠 光雄, 佐藤 仁, 津川 順一, 前田 慶子, 炭野 淳, 原田 清, 渡部隆夫, 柚木泰広, 長澤宏和, 山城正司: 舌癌モデルの作製と有用性. 第 59 回日本口腔外科学会総会・学術大会 2014 年 10 月 17 日、幕張メッセ国際会議場・国際展示場(千葉県千葉市)
 13. 鶴澤 成一, 高橋 謙一郎, 炭野 淳, 守谷 友二郎, 森田 琢磨, 道川 千絵子,

原田清：口腔癌多段階発癌過程における
遺伝子発現データベースの構築. 第38回
日本頭頸部癌学会 2014年6月13日 東京
ファッションタウンビルホール（東京
都江東区）

14. 星 礼子, 鶴澤 成一, 道 泰之, 水谷
美保, 大山 巖雄, 炭野 淳, 名生 邦
彦, 原田 清：口腔癌後発頸部リンパ節
転移被膜外浸潤陽性例に関する検討. 第
38回日本頭頸部癌学会 2014年6月13
日、東京ファッションタウンビルホー
ル（東京都江東区）
15. 炭野淳, 藤豊, 稲葉好則, 鶴澤成一, 原
田清：智歯の抜去を行った Gitelman 症候
群の1例. 第197回日本口腔外科学会・
関東支部学術集会、2014年6月7日、自
治医科大学（栃木県宇都宮市）
16. 高橋 謙一郎, 鶴澤 成一, 大山 巖雄,
炭野 淳, 勝村 早恵, 柏森 高, 原田
清：下顎骨に発生し急速に進行した未分
化癌の一例. 第68回日本口腔科学会学
術集会 2014年5月9日、京王プラザホテ
ル（東京都新宿区）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

炭野 淳 (SUMINO Jun)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：30634109