

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月15日現在

機関番号：32645
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21791649
 研究課題名（和文） 頭頸部領域の前癌病変と扁平上皮癌における癌化および進展のメカニズムの解明
 研究課題名（英文） Elucidation of the carcinogenesis mechanism in a precancerous lesion and the extension of squamous cell carcinoma of the head and neck region
 研究代表者
 北村 剛一（KITAMURA KOICHI）
 東京医科大学・医学部・講師
 研究者番号：50424560

研究成果の概要（和文）：頭頸部領域の前癌病変と扁平上皮癌の標本を用いて病理組織学的手法により癌化および進展のメカニズムの解明と予後因子の検討を行った。喉頭と舌の前癌病変では、癌抑制遺伝子であるFHIT蛋白の発現の低下と上皮成長因子受容体関連遺伝子のEGFR蛋白の発現の増加が癌化の指標となりえた。また、喉頭癌の疾患特異的生存率は、FHITの蛋白の発現の低下とEGFR蛋白の発現の増加が予後不良の予測因子となりえた。

研究成果の概要（英文）：We employed histopathological techniques to examine prognostic factors in the mechanism of carcinogenesis as well as extension in squamous cell carcinoma of the head and neck region, using a specimen of a precancerous lesion. For laryngeal and lingual precancerous lesions, decreased expression of cancer-restraining gene FHIT and increased expression of protein EGFR were found to be useful as indices of carcinogenesis. Also, regarding the disease-specific survival rate in laryngeal cancer, decreased expression of FHIT protein and increased expression of EGFR were useful as predictors of a poor prognosis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：医歯薬

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：頭頸部外科学

1. 研究開始当初の背景

腫瘍の多くは、前段階（前癌または前駆病変）を経て悪性化/癌化の過程を辿っていきと考えられている。腫瘍には、細胞周期（ $G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow M \rightarrow G_1$ ）における異常増殖や形態・分化の異常、機能異常など正常細胞にはみられない特性がみられる。これらの特性は、腫瘍細胞の染色体や遺伝子などのDNAが関与し蛋白質の異常を引き起こす。腫瘍の

細胞増殖能の亢進には、癌遺伝子の活性化とがん抑制遺伝子の抑制が関与している。しかしながら、前癌段階でのその意義は明確ではない。また、癌の進展や予後との関連や役割も不明確な点が多い。そのため、前癌病変の悪性化の指標および癌の進展に関わる因子を明確にすることが今後の治療方針や予後を考える上で重要である。

2. 研究の目的

頭頸部癌の90%を占める扁平上皮癌は、臨床的には発生部位によりリンパ節転移の頻度が異なっている。さらに個々の症例において放射線治療や化学療法に対する反応性、抵抗性に違いが生じることを経験する。これは既存の病理組織学的所見や病気分類では説明できない多様性が存在することを示している。

頭頸部領域の前癌病変と扁平上皮癌における癌抑制遺伝子の役割、細胞周期制御の異常を調べることによりその蛋白レベルの発現が癌化の予測因子になるのか、癌の浸潤の程度や転移の予測因子になりうるかを検討する。

3. 研究の方法

対象は、未治療の喉頭と舌の前癌病変 (dysplasia) と扁平上皮癌 (Squamous Cell Carcinoma: SCC) である。その内訳は、喉頭の前癌病変 34 例、舌の前癌病変 25 例、喉頭癌 61 例、舌癌 39 例である。病理組織学的診断は、日本頭頸部癌取扱い規約に沿って前癌病変を low grade dysplasia (低分化異型度) と high grade dysplasia (高分化異型度) に分類した。

方法は、10%ホルマリン固定されパラフィン包埋された標本を用いて、一次抗体は、抗 Ki-67 抗体 (細胞増殖マーカー)、抗 FHIT (Fragile Histidine Triad) 抗体 (癌抑制遺伝子)、抗 p53 抗体 (癌抑制遺伝子)、抗 p16 抗体 (癌抑制遺伝子)、抗 cyclin D1 抗体 (細胞周期関連遺伝子)、抗 EGF R (Epidermal Growth Factor Receptor) 抗体 (上皮成長因子受容体関連遺伝子) を用いて免疫組織学的手法にて蛋白の発現を検討した。

また、喉頭癌と舌癌を TNM 分類に基づき T (腫瘍の大きさ) 別に早期癌 (T1・2)、進行癌 (T3・4) に分け、カプランマイヤー法を用いて疾患特異的生存率を計測し、蛋白の発現が予後因子になりうるかを有意差検定を行い判定した。

4. 研究成果

(1) 喉頭の前癌病変と喉頭癌

Low grade dysplasia と喉頭癌の比較では、細胞増殖マーカー Ki-67 蛋白の発現の増加 (図 1) および FHIT 蛋白の発現の低下 (図 2) の間で有意差があり、FHIT 蛋白と Ki-67 蛋白の発現の間には逆相関があった。Ki-67 蛋白は細胞周期の G₀ 期には増殖に関与していないことが報告されており、FHIT 蛋白は G₀-G₁ 期に機能していると思われた。

また、FHIT 蛋白と p16 蛋白の発現の間に相関はなく、p16 蛋白の発現の低下は細胞周期の G₁ 期から S 期における喉頭の癌化には関与していないと思われた。

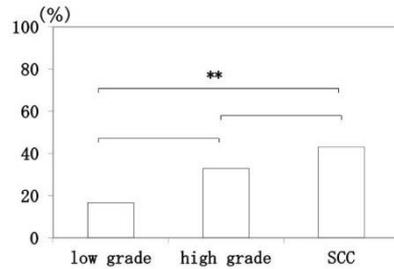


図 1. 喉頭のki-67 labeling index

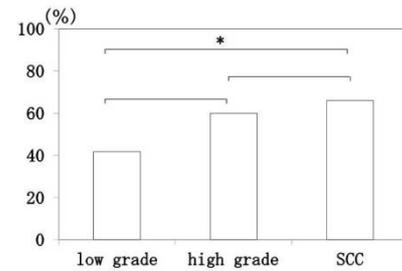


図2. 喉頭のFHIT蛋白の陰性率

Low grade dysplasia と喉頭癌との比較では、喉頭癌で FHIT 蛋白の発現の低下と p53 蛋白の発現 (図 3) の増加がみられた。このように FHIT 蛋白と p53 蛋白の発現の間に逆相関がみられることから、FHIT 蛋白の発現は p53 蛋白とは独立した経路で癌化に関与していると思われた。

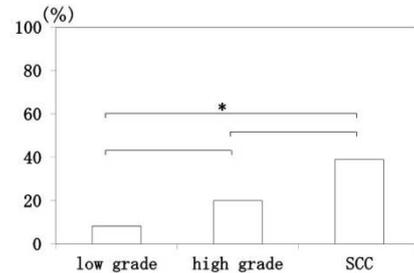


図3. 喉頭のp53蛋白の陽性率

CyclinD1 蛋白は、異型度と悪性度が増すにつれて発現の増加がみられたが、有意ではなかった。EGF R 蛋白は、喉頭癌では有意に増加 (図 4) しており癌化の指標であると思われた。

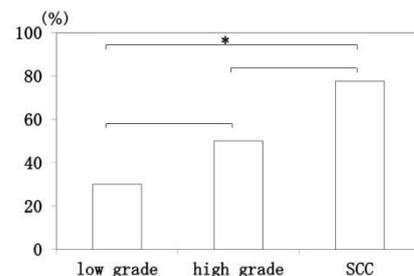


図4. 喉頭のEGFR蛋白の陽性率

(2) 舌の前癌病変と舌癌

喉頭病変と同様に、異型度と悪性度が増すに伴い FHIT 蛋白と Ki-67 蛋白の発現の間には逆相関があった。FHIT 蛋白は G₀-G₁ 期に機能していると思われた。

CyclinD1 蛋白は、異型度と悪性度が増すにつれて発現の増加がみられたが、有意ではなかった。

舌癌では、low grade dysplasia と high grade dysplasia に比べ有意に EGF R 蛋白の発現が増加 (図 5) しており、癌化の指標であると思われた。

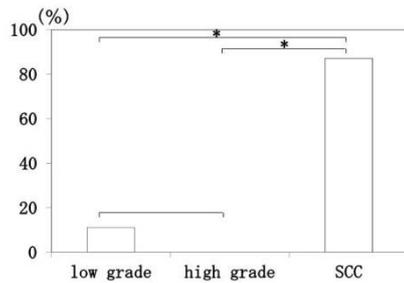


図5. 舌のEGFR蛋白の陽性率

(3) 喉頭癌の生存率について

早期癌と進行癌の生存率を比較すると FHIT 蛋白の発現の低下している症例では有意に予後が悪かった (図 6)。また、進行癌では、EGF R 蛋白の発現が増加している症例で有意に予後が悪かった。

FHIT 蛋白と EGF R 蛋白は、喉頭癌の予後因子と成りうる事が示唆された。早期癌でも FHIT 蛋白が陰性で EGF R 蛋白が陽性では、治療の選択と癌の再発や転移に十分注意を要する。

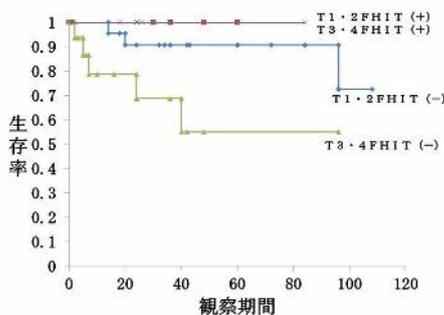


図6・喉頭のFHIT蛋白発現別の疾患特異的生存率

(4) 舌癌の生存率について

すべての検討項目で有意な差はなかった。病理組織学的には喉頭癌と舌癌は同じ扁平上皮癌であるが、歯牙との接触や炎症、食塊の影響を受けやすい舌病変では喉頭癌とは違い新たな予後因子の検索が必要である。

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 3 件)

- ① 北村剛一、小宮貴子、岩瀬直人、山下淳、宮田和人、永尾健：頭頸部再建術後に発症したヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) の 1 例. 東京医科大学雑誌 67:461-471, 2009. 査読無
- ② 伊藤博之、鈴木衛、清水顕、北村剛一、品田恵梨子、近藤貴仁、吉田知之：副鼻腔癌手術における 3D 実体モデルの応用. 耳展 52:130-132, 2009. 査読有
- ③ 小林賀子、清水顕、北村剛一、飯村陽一、伊藤博之、鈴木衛：耳介に発症した baso squamous cell carcinoma の 1 例. 耳展 34:30-34, 2011. 査読有

[学会発表] (計 8 件)

- ① 伊藤博之、鈴木衛、清水顕、北村剛一、塚原清彰、清水重敬、岡本伊作、吉田知之：副鼻腔拡大手術における 3D 実体モデルの有用性. 第 19 回日本頭頸部外科学会 (名古屋). (2009. 1)
- ② 小林賀子、清水顕、伊藤博之、北村剛一、豊村文将、鈴木衛：当科における顎下腺腫瘍の病理学的・臨床学的検討. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会 (東京) (2009. 5)
- ③ Kitamura K, Kobayashi R, Suzuki M: Clinicopathological significance of fragile histidine triad transcription protein expression in laryngeal carcinogenesis. XIX IFOS World Congress (Sao Paulo). (2009. 6)
- ④ 北村剛一、清水顕、伊藤博之、豊村文将、鈴木衛：舌癌再建術後に発症したヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) の 1 例. 第 33 回日本頭頸部癌学会 (札幌) (2009. 6)
- ⑤ 清水顕、伊藤博之、長尾俊孝、北村剛一、豊村文将、吉田知之、鈴木衛：当科における耳下腺腫瘍の検討. 第 33 回日本頭頸部癌学会 (札幌). (2009. 6)
- ⑥ 小林賀子、清水顕、北村剛一、飯村陽一、伊藤博之、鈴木衛：耳介に発症した baso squamous cell carcinoma の 1 例. 第 20 回頭頸部外科学会 (東京). (2010. 1)
- ⑦ 清水顕、北村剛一、品田恵梨子：頭頸部癌化学療法における末梢挿入型中心静脈カテーテルの有用性. 第 34 回日本頭頸部癌学会 (東京). (2010. 6)
- ⑧ Kitamura K, Ito H, Shimizu A, Kobayashi N: Heparin-induced thrombocytopenia post reconstructive surgery. American Academy of Head and Neck Surgery Annual meeting & OTO EXPO2010 (Boston, USA) (2010. 9)

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

()

研究者番号:

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

