

平成 30 年 6 月 16 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10785

研究課題名(和文) 鼻副鼻腔内反性乳頭腫の診断・再発・悪性化マーカーの探索

研究課題名(英文) Investigation of markers for diagnosis, recurrence and malignant transformation in inverted papilloma

研究代表者

長谷川 昌宏 (Hasegawa, Masahiro)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤講師

研究者番号：10347156

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：内反性乳頭腫(IP)では炎症疾患と比較して血中SCCA値は有意に高く($p < 0.001$)、またIPの血中SCCA値と腫瘍容量にはかなり相関($r = 0.522$)があり、IPに対する血中SCCA値(異常値; $> 1.5 \text{ ng/ml}$)測定は感度83.3%、特異度94.7%であった。IPのヒト乳頭腫ウイルス(HPV)陽性率は29.4%であり、SCC、IP+SCCも炎症群と比較してHPV感染が多いことが判明した。癌病変ではウイルス量は良性IPに比較して有意に高く、integrationしていた。

研究成果の概要(英文)：Squamous cell carcinoma antigen was significantly elevated in inverted papilloma than squamous cell carcinoma (SCC) and infectious diseases (CRS). Higher viral loads and integration observed in the IP, IP+SCC, and SCC groups. In addition, an inverse correlation between HPV presence and positive pRb indicated that persistent infection and integration play a part in tumorigenesis and malignant transformation in certain IP cases. Regardless of HPV status, p16INK4a positivity was frequently detected in IP cases (82.4%), less in SCC (12.5%) cases, and was not detected in the CRS group.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：内反性乳頭腫 診断 再発 悪性化 ヒト乳頭腫ウイルス 扁平上皮癌抗原

1. 研究開始当初の背景

鼻副鼻腔内反性乳頭腫 (inverted papilloma, IP と略す) は低侵襲な鼻内視鏡下切除で治療されるようになってきた。メタ解析では内視鏡下切除の腫瘍再発率は 11~12%、悪性病変の合併 (同時性、異時性) は約 10% と報告されている。IP は腫瘍周辺に炎症性病変を伴うため、病理検査を行っても術前に IP の診断がつかず、術後病理検査で初めてわかることは稀ではない。IP の内視鏡下手術は通常の副鼻腔炎手術手技と異なり腫瘍基部を周囲の骨膜とともに完全摘出する必要があり、再発を減らすためには、術前に IP と診断することが極めて重要である。さらに、IP 病変に混在する悪性病変を術前に予測することは難しく、術中迅速、術後病理による診断に頼らざるをえない。術前に易再発性、悪性病変合併を予測することができれば、術者は十分な切除が行えるように手術アプローチ手技を変更することができ、臨床上的有用性が高い。研究代表者は、平成 22~25 年度に若手研究 (B) 科研費助成を受け、IP の再発・悪性転化とヒト乳頭腫ウイルス (Human papillomavirus; HPV と略す)、扁平上皮癌抗原 (squamous cell carcinoma antigen; SCCA と略す) について解析を行った。この結果、IP では SCCA の遺伝子発現が炎症の 20 倍以上になっていること、再発病変の検出に有用であること、悪性病変では SCCA2/SCCA1 が上昇すること、IP では HPV 感染が約 30% に見られることを報告した。しかし、SCCA2/SCCA1 比の測定は real-time PCR 法が必要でコストや時間がかかること、悪性病変同定の感度は 91.7% と高いが、特異度は 66.% とやや低く、臨床検査として行うことは難しいことがわかった。

2. 研究の目的

先行研究で得られた結果を発展させ、IP 診断、易再発性、悪性病変合併を予測できるマーカーを見いだすことを目指し計画した。

3. 研究の方法

研究 1. 扁平上皮癌抗原 (SCCA) による内反性乳頭腫の診断

IP は通常一側性鼻副鼻腔疾患と診断され、治療を受ける。そこで一側性鼻副鼻腔疾患の手術例を対象に、術前後の SCCA 測定、SCCA 測定による IP 同定の感度、特異度を算出する。SCCA は扁平上皮癌以外に、皮膚病変 (アトピー性皮膚炎、掌蹠膿疱症、乾癬など) や喫煙などによる肺病変をもつ例では上昇することが知られている。SCCA による IP 同定のためにはこのような症例での SCCA 値を検討する。

研究 2. HPV 感染と IP の悪性化

HPV 感染率、感染ウイルス量、physical status を測定し、IP の悪性化との関連を明らかにす

る。

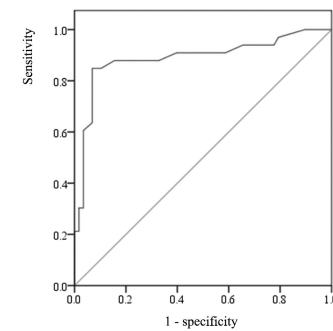
研究 3. IP における p16^{INK4a} を含む cell cycle protein の発現解析

免疫染色を用いて、IP、上顎癌、炎症組織での p16^{INK4a} を含めた cell cycle protein 発現、p16^{INK4} プロモーター領域のメチレーションとの関連を明らかにし、術後病理、臨床経過と比較することにより、悪性化、易再発性のマーカーを見いだす。

4. 研究成果

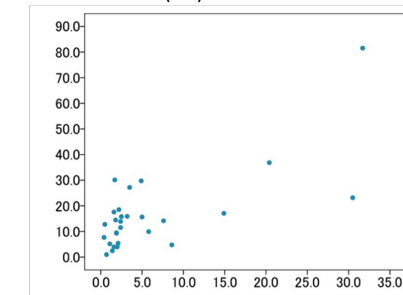
成果 1.

IP30 例の血中 SCCA 値 (異常値; > 1.5ng/ml) の中央値は 2.4ng/ml、慢性副鼻腔炎や好酸性副鼻腔炎などの炎症群 (以下炎症群とする) 57 例の中央値は 0.9ng/ml で IP の血中



Correlation coefficient: 0.554 (p=0.002)

Tumor volume (ml)



SCCA 値は有意に高く (p<0.001) また、IP の血中 SCCA 値と IP の腫瘍容量には有意の相関 (r=0.522) があり、IP に対する血中 SCCA 値 (異常値; >

1.5ng/ml) の感度 83.3%、特異度 94.7% であることがわかった。

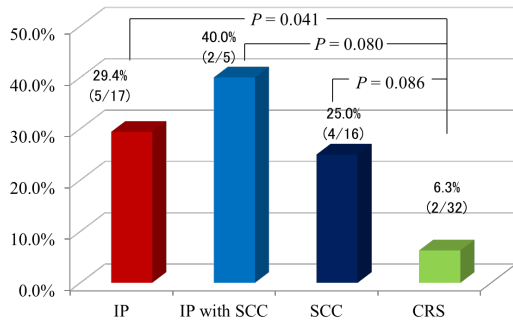
このことから診断、再発のマーカーとして SCCA 測定が有用であることが判明した。喫煙者で SCCA が高い傾向があり、SCCA による IP 推定には喫煙者では 2.0、非喫煙者では 1.5 とすると最も感度、特異度が高くなることが判明した。

成果 2

IP の HPV 陽性率は 29.4% であり、炎症群の HPV 陽性率 6.3% に比較し有意に高く、SCC 群は 25.0%、IP+SCC は 40.0% が HPV 陽性であり、SCC、IP + SCC も炎症群に比較して HPV

Groups	HPV presence	High-risk HPV (numbers)	HPV-16 viral load (E6 copies/50 ng genomic DNA)	E2/E6 of HPV-16	Integration type
SCC (n=16)	25.0%, 4 of 16	HPV-16, 3; HPV-18, 1	35	0.12	mixed
			79	0.1	mixed
			594	0.85	mixed
IP+SCC (n=5)	40.0%, 2 of 5	HPV16, 2	1524	0.65	mixed
			7953	0.67	mixed
IP (n=17)	29.4%, 5 of 17	HPV16, 3; HPV33, 2	2.5	1	episomal
			24.2	1	episomal
			74	1	episomal
CRS (n=32)	6.3%, 2 of 32	HPV16, 2	5.1	0.12	mixed
			6.8	1	episomal

陽性が多いことがわかった。また、HPV 陽性の SCC、IP+SCC のウイルス量は HPV 陽性の IP に比較して有意に高く、HPV は SCC、IP+SCC では integration していたが、IP においては episomal であることがわかった。これにより IP に integration を示す HPV 感染が見られる場合に悪性化しやすいことが判明し、マーカーとなり得ると推定された。

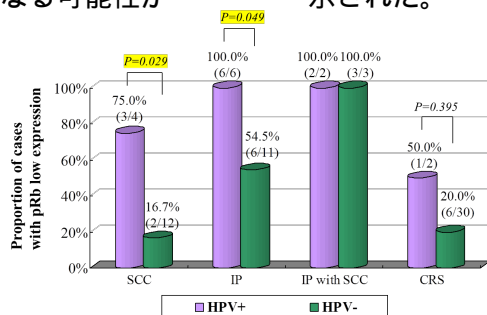


成果 3

pRb, p53, p16 の免疫染色を行った。p53 は SCC、IP+SCC で高発現を示した。一方 IP、炎症では低発現であった。pRb は HPV 感染例で低発現していることから、HPV 感染は腫瘍形成に影響を与えている事が判明した。一方 p16 は HPV 感染と無関係の IP では上

Groups	HPV presence	p16 ^{INK4a}		p53		pRB	
		(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
SCC (n=16)	25.0% HPV (+), n=4	1	3	2	2	1	3
	HPV (-), n=12	1	11	8	4	10	2
IP+SCC (n=5)	40.0% HPV(+), n=2	2	0	1	1	0	2
	HPV(-), n=3	0	3	0	3	0	3
IP (n=17)	29.4% HPV (+), n=5	4	1	0	5	0	5
	HPV (-), n=12	10	2	1	11	6	6
CRS (n=32)	6.3% HPV(+), n=2	0	2	0	2	1	1
	HPV(-), n=30	0	30	0	30	24	6

昇しており中咽頭癌とは異なり surrogate marker にはならないことが判明した。P53 高発現、pRb 低発現が悪性化のマーカーとなる可能性が示された。



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 2 件)

1. Yamashita Y, Uehara T, Hasegawa M, Deng Z, Matayoshi S, Kiyuna A, Kondo S, Maeda H, Ganaha A, Suzuki M. Squamous cell carcinoma antigen as a diagnostic marker of nasal inverted papilloma.

Am J Rhinol Allergy. 2016 Mar-Apr;30(2):122-7. 査読あり

2. Yamashita Y, Hasegawa M, Deng Z, Maeda H, Kondo S, Kyuna A, Matayoshi S, Agena S, Uehara T, Kouzaki H, Shimizu T, Ikegami T, Ganaha A, Suzuki M.

Human papillomavirus infection and immunohistochemical expression of cell cycle proteins pRb, p53, and p16(INK4a) in sinonasal diseases. Infect Agent Cancer. 2015 Aug 4;10:23. 2. 査読あり

〔学会発表〕(計 1 件)

1. 山下懐、長谷川昌宏、他：鼻副鼻腔内反性乳頭腫と血中扁平上皮癌関連抗原の検討。日本耳鼻咽喉科学会総会、2015

〔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

長谷川昌宏 (Hasegawa Masahiro)

琉球大学大学院医学研究科非常勤講師

研究者番号：10347156

(2) 研究分担者

山下懐 (Yamashita Yukashi)

琉球大学大学院医学研究科助教

研究者番号：60569622

真栄田裕行 (Maeda Hiroyuki)

琉球大学大学院医学研究科准教授

研究者番号：40264501

(3)連携研究者 ()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()