

機関番号：12501

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791595

研究課題名（和文） 頭頸部癌のリンパ節転移に関するメカニズムの解明

研究課題名（英文） The Mechanisms of lymph node metastases in head and neck carcinoma

研究代表者

茶藷 英明 (CHAZONO HIDEAKI)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70313806

研究成果の概要（和文）：

頭頸部癌手術症例において、原発巣、頸部リンパ節を連絡する頸部脂肪に注目したユニークな検討を行った。成熟したリンパ節とは異なる脂肪関連リンパ球集積 FALC: Fat-Associated Lymphoid Cluster を同定し、癌の転移との関連を調べた。これら細胞群は放射線治療により有意に減少し、頸部の患側、健側における比較では患側に多く、また遠隔転移陽性症例では陰性症例と比較して多く存在している可能性が確かめられた。FALC は頭頸部癌の転移能力と何らかの関連があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We focused on the neck fat locating between neck lymph nodes and the primary lesion in patients with head and neck cancer. Fat-Associated Lymphoid Cluster (FALC) was identified in human neck and investigated the relevance of cancer metastasis. These cell populations were significantly reduced by radiation therapy. On the other hand these cells were significant increased in the affected side of the neck and in patients' neck with distant metastasis. FALC might have some relationship to the metastatic ability of head and neck cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

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：頭頸部癌、VEGF、頸部脂肪組織、リンパ節転移、脂肪関連リンパ球集積

1. 研究開始当初の背景

現在、免疫学的アプローチとして癌の性質を考える上で重要な表面マーカーが多数同定されている。浸潤形式、転移形式、生体に与える影響など数多くの研究が散見される中、未だに行われていない検討方法や未解明な部分も残されている。実際の臨床でも、原発癌の大きさの割に転移しない腫瘍、逆に原発

癌は非常に小さいものであっても全身に多発転移巣を形成する腫瘍もあり、同じ組織型でも多彩な病態を呈することも興味深い一例である。これら癌のリンパ節転移に関するサイトカインとしてはVascular Endothelial Growth Factor (VEGF) などの研究が近年注目されており、すでに分子標的治療として様々な癌治療に臨床応用され始めている

(Vishad Nabili et al. Head Neck 29:907-912, 2007)。

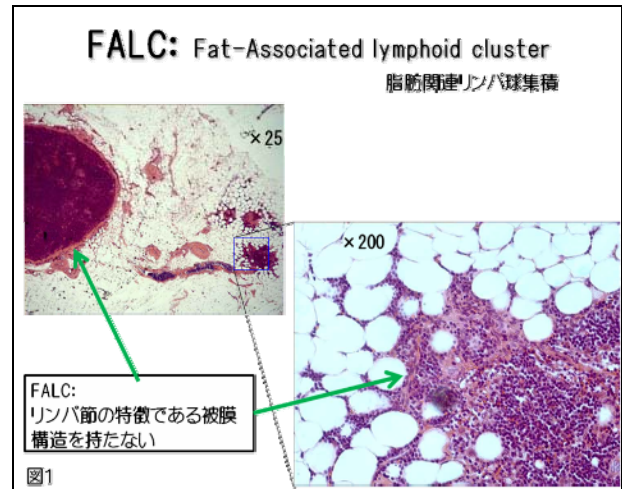
頭頸部癌はもちろん、他の領域においても重要な予後決定因子は原発部位の大きさよりもリンパ節転移の有無、リンパ節外浸潤の有無の方が大きく、これらの機序を解明することが予後判定、治療法の開発に関する基礎データとして有用であると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 原発巣と転移リンパ節をつなぐ脂肪組織についての検討

頭頸部は非常にユニークな部位であり癌の原発部位と豊富な100個以上存在するとされる所属リンパ節の一塊切除が可能な部位である。そのため癌のリンパ節転移に関する病態に関する研究には有利であり、リンパ節の部位も表在にあるため観察が容易であるという他の領域にない特徴がある。一塊に摘出された癌は正常組織に包まれ、原発巣とリンパ節転移を連絡する、リンパ管、血管をふくむ脂肪を中心とした結合組織について検討する。

(2) 以前の検討で、頸部の脂肪を固定し切片を作成して HE 染色にて確認すると脂肪の隙間にリンパ球の集簇、炎症性細胞などが確認されリンパ節の構造を持たないリンパ球貯蔵部位であることが確認できた(2007年第25回耳鼻咽喉科免疫アレルギー発表抄録集 p166-67. 図1)。このリンパ節にある被膜を有しないリンパ球集簇は後に Moro K, Koyasu S らによって FALC: Fat-Associated lymphoid cluster としてマウスの腸間膜での報告があったリンパ球様細胞群と病理学的に類似している(Nature 463:540-544. 2010.)。



本報告においては『頸部 FALC』と呼び、これら細胞群が臨床的にどのような意義があるのかは現在のところ不明であるが、転移のメカニズムを解明する上で重要な鍵になる可能性を考え検討した。

3. 研究の方法

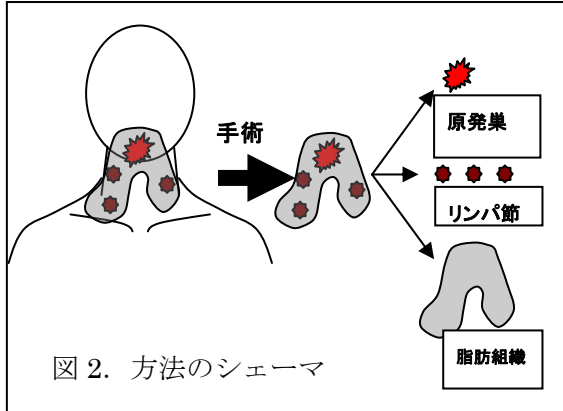
(1) 当科ではこれまでも根治的な治療としての放射線治療の適応にならない進行した頭頸部癌症例に対して積極的な手術治療も含めた集学的治療を行ってきた。

今回、頭頸部癌患者の手術症例11例より得た、癌の原発巣、頸部リンパ節、頸部脂肪組織に分類し、通常の病理組織学的な検討に加え、頸部脂肪組織に関する検討を行った(図2)。

(2) 頸部リンパ節は頸部レベル分類に基づいて人為的に抽出されそれぞれ個別に病理診断に提出される。このとき肉眼的にリンパ節と確認できる約2mm径以上のリンパ節を摘出後、通常は検査対象とならない脂肪組織を集め、HE染色および以下の免疫染色により検討した。

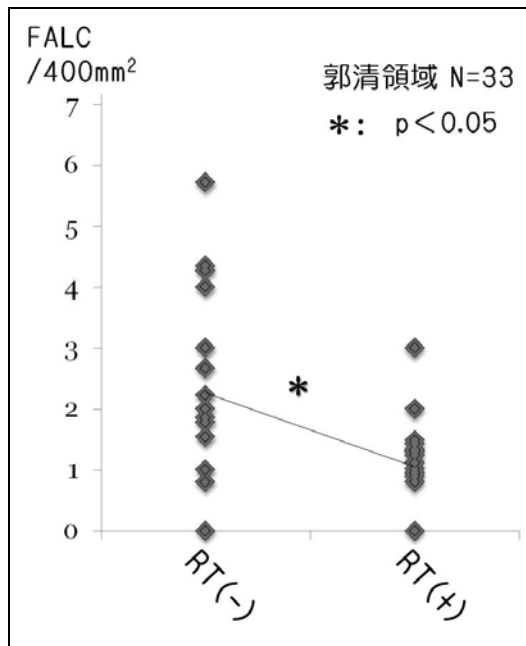
行った免疫染色はリンパ管増殖因子である VEGF-C、VEGF-D、そのレセプター抗体である VEGF-R3、リンパ管上皮に特異的に発現される D2-40 である。以上の染色を行うことにより臨床的なリンパ節転移、遠隔転移などの

関連を検討した。

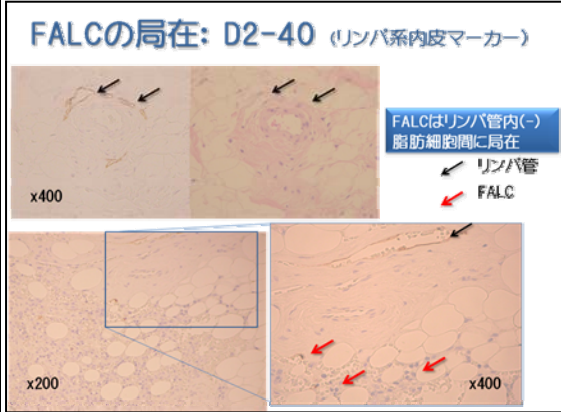


4. 研究成果

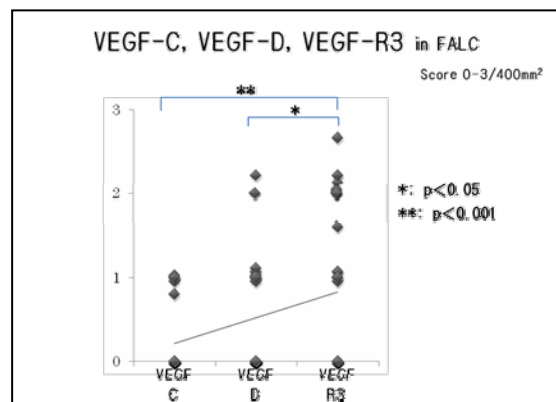
(1) 頸部 FALC は HE 染色では細胞質の少ない、小型の細胞で、リンパ球様の細胞である。頭頸部癌では術前に化学療法を併用した同時化学放射線治療を施行し、機能の温存を図ることがある。放射線治療を施した症例において頸部郭清術を施行すると、切除された脂肪組織内にリンパ節が見られないことがあるため、放射線治療施行症例と非施行症例での FALC の数について比較を行った。その結果、照射例において有意に頸部脂肪組織内の FALC が有意に減少していると考えられた(図 3)。放射線治療は正常組織に損傷を来し、頸部では脂肪組織の消失、癒痕化による頸部の硬化を来すことが日常診療においてみられる。これら副反応についても、FALC の減少との何らかの関連性が示唆される。



(2) D2-40 染色にて FALC(リンパ球様細胞)は D2-40 に染色されたリンパ管内には存在しておらず、脂肪細胞の間隙に存在していることが確認される。つまり単なるリンパ球がリンパ管の中に集まっている状態が観察されているのではなく、細胞間隙にリンパ球様の細胞が存在し、正常リンパ節に確認される被膜の形成がない細胞集団であることが確認された。(図 4)。



(3) それぞれの染色性について陰性：0、弱陽性：1、強陽性：2 の 3 群に分類し、その脂肪断面積の基本単位を 400mm³ として算出した値をグラフに示したのが図 5 である。頸部 FALC 内における染色性は VEGF-R3、VEGF-D が強く、VEGF-C は比較的弱い結果であった(図 5)。これまでの報告において VEGF-C、-D はリンパ管形成に重要な分子であることが確認され、またそのレセプターに対応するのが VEGF-R3 である。脂肪内のリンパ節転移に関する検討する際にはレセプターである VEGF-R3 を検討対象にすることの利点が示された可能性がある。



(4) また腫瘍の転移能力を考える場合、症例ごとに遠隔転移が確認された症例と確認されない症例で検討すること、さらに遠隔転移が見られなかった症例でもリンパ節転移の

形式が患側だけの症例や、健側である反対側にまで転移していた症例で比較するのが適当であると考え考察した。結果を図6に示す。遠隔転移のある症例や同一症例でも患側で頸部 FALC が多い傾向が VEGF-C, -D において示された (図6)。

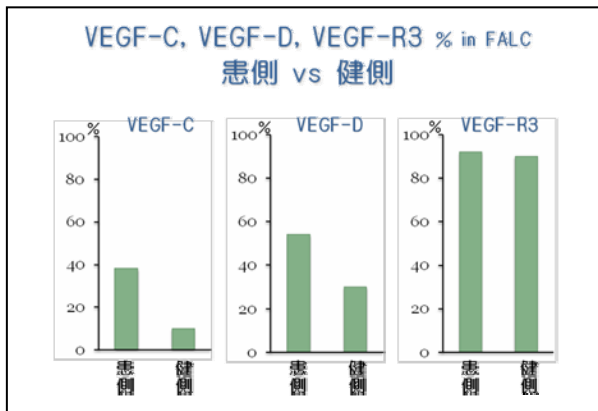


図 6

症例数が少なく断定的なことは言えないが未知の細胞集団と癌の転移能力について言及できたと考える。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

発表者：茶藪英明

発表標題：「ヒト頸部脂肪組織における脂肪関連リンパ球集積の免疫化学染色による検討」

学会名：第29回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会

発表年月日：平成23年2月11日

発表場所：大分全日空ホテルオアシスタワー

6. 研究組織

(1) 研究代表者

茶藪 英明 (CHAZONO HIDEAKI)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70313806