

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22791614

研究課題名(和文)内反性乳頭腫の再発、悪性化機序の解明

研究課題名(英文)the elucidation of recurrence and malignant alteration mechanism of 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)・助教

研究者番号：10347156

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：鼻副鼻腔内反性乳頭腫は良性腫瘍であるが臨床的に2つの問題点，易再発性(手術切除による再発率：20%)，悪性転化(扁平上皮癌への悪性転化：10%)，がある。本研究は術前に易再発性，悪性転化のリスクを診断し，術式に反映させることを最終的な目標とした。血中扁平上皮癌抗原(SCCA)が内反性乳頭腫診断，再発診断に有用であった。mRNA発現のSCCA2/1比は，内反性乳頭腫と副鼻腔炎では同等であったが，副鼻腔癌で有意に高値を示し，悪性化と関連する可能性が示唆された。内反性乳頭腫手術例ではHPV陽性率は46.1%であった。内反性乳頭腫発生，癌化に，特にHPV16が関与している可能性が強く示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although sinonasal inverted papilloma (IP) is one of the benign tumor, there are two clinical problems about it. IP is easy to recur (the rate of recurrence after operation: 20%), and has a potential of malignant transformation (approximately 10%). The final goal of this study is to evaluate the potential of recurrence and malignant transformation before surgery. The squamous cell carcinoma antigen (SCCA) in IP patient's serum was useful to diagnosis of IP presence and recurrence as well as pathologic examination. The SCCA2/1 ratio of mRNA expression in IP was equivalent to those in sinusitis, while paranasal cancer demonstrated the significantly higher SCCA2/1 ratio. The SCCA2/1 ratio in tissue may indicate the possible malignant transformation of IP. Since the HPV presence rate in IP was 46.1%, HPV has a potential of making IP and integration of HPV also causes the malignant transformation of IP.

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：内反性乳頭腫 扁平上皮抗原 ヒト乳頭腫ウイルス Epstein-Barウイルス インテグレーション 癌化

1. 研究開始当初の背景

(1) 内反性乳頭腫とウイルス感染, 血中扁平上皮癌抗原(SCCA):
鼻副鼻腔乳頭腫は病理学的に内反性, 外反性, 円柱細胞性乳頭腫に分類される。内反性乳頭腫は最も多く全乳頭腫の50-70%とされる。乳頭腫からのヒト乳頭腫ウイルス(以下 HPV と略す) 検出率は, 外反性では75-100%, 内反性では5~70%と報告されている。外反性乳頭腫の場合は良性型 HPV(6 型, 11 型など)が, 内反性乳頭腫では悪性型 HPV(16 型, 18 型など)が検出されるとの報告が多い(Kashima et al, Laryngoscope 102: 973-6, 1992)。HPV は数十種類あり, 居住地域, 検出法により同定される腫瘍内 HPV の頻度 種類が異なる。その他のウイルスでは EB ウイルス(以下 EBV)との関連を示唆する報告も散見される(Dunn et al. Head Neck 19: 98-106, 1997)。また内反性乳頭腫では血中 SCC 抗原が上昇し, 切除により急速に抗原値が減少することが報告されている(Yasumatsu et al. Cancer 94: 152-158, 2002)。SCC 抗原は内反性乳頭腫から分泌されると推定されるがその詳細はよく分かっていない。内反性乳頭腫の血中 SCCA 陽性率, 値は頭頸部癌における SCCA 陽性率, 値よりも高く易再発性や悪性転化の指標になる可能性がある。

(2) 内反性乳頭腫の易再発性, 悪性転化:
内反性乳頭腫の易再発性, 悪性転化に関して, HPV16, 18 感染, P53, P21 の発現低下, metalloproteinase2, 9 などが関与することが報告されているが, 報告者により内容が異なり意見の一致をみない(Katori et al. Clin Oncol 18: 300-305, 2006; MaKay

et al. Laryngoscope 115: 1428-1431, 2005, Katori et al. J Surg Oncol 93:80-85, 2006 など)。これまでの報告から内反性乳頭腫では90%以上でHPVDNAが証明される子宮頸癌とは異なり HPV 陽性率が低く, HPV 感染以外の要因や EB ウイルスの共感染なども考慮する必要がある。また内反性乳頭腫, 癌化した内反性乳頭腫, 扁平上皮癌をこれまで同一条件で比較した報告はごく少数しかなく, 臨床応用にはほど遠い。

(3) 内反性乳頭腫の手術:

内反性乳頭腫切除の際に周囲の正常組織をどの程度切除すれば治癒切除となるのか術者として悩むところであるが, この疑問を解決する研究は国内外でみられない。術前に内反性乳頭腫の易再発性, 悪性転化を判定し, 治癒切除を行うためには, HPV, EBV に関連した要因をさらに詳しく研究するとともに腫瘍周囲の粘膜でのウイルス感染について明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

鼻副鼻腔内反性乳頭腫は良性腫瘍であるが臨床的に2つの問題点, 1. 易再発性(手術切除による再発率: 20%), 2. 悪性転化(扁平上皮癌への悪性転化: 10%), がある。鼻副鼻腔内反性乳頭腫を内視鏡下切除する場合, 術野が狭いため必ずしも一塊で切除ができず, 分割切除となることが多い。一方, 分割切除した場合, 腫瘍の播種, 再発リスクが高まるとの報告がある。そこで術前に, 対象例における易再発性や悪性転化のリスクを判定できれば術式を決める上で大変重要である。本研究は術前に易再発性, 悪性

転化のリスクを診断し、術式に反映させることを最終的な目標とする。

3. 研究の方法

(1) retrospective な内反性乳頭腫の手術症例の検討：

病歴，腫瘍存在部位，MR 画像所見，手術方法，再発の有無，細胞異型の程度，血中 SCC 抗原，血中シフラ値の調査を行おこない，易再発性，悪性転化の指標となる項目を retrospective に検討する。本実験により現在一般的に行われている検査・診察での程度易再発性，悪性転化予測できるかを明らかにする。

(2) 生検・摘出標本を用いた HPV，EBV 感染有無とウイルス濃度の測定 (PCR, real time PCR)：

内反性乳頭腫で検出される HPV タイプ，EBV は居住地，検出方法にて異なることが予想される。そこで当該施設で生検・手術をおこなった症例について組織中の HPV，EBV ゲノムの存在を PCR 法検討する。陽性例についてはシーケンスにて塩基配列を決定しそのサブタイプを確定する。予備実験にて腫瘍組織内から検出される HPV，EBV のウイルスコピー数が症例により大きく異なることが予測されるため，HPV，EBV 陽性例の組織内ウイルスコピー数を real time PCR を用いて計測する。本実験によりウイルス感染の有無とその程度を明らかにする。

(3) SCC 抗原 (SCCA1, SCCA2) の遺伝子発現 (RT-PCR, competitive PCR), SCC 産生細胞の同定：

腫瘍組織から mRNA を抽出し，RT-PCR をおこない，cDNA テンプレートを作成する。これを用いて SCCA1, 2 の遺伝子発現比 (SCCA1/2) を semi-quantitative competitive PCR 法を用いて比較し，血中 SCCA 値と比較する。また SCCA1 及び SCCA2 が内反性乳頭腫内のどこで分泌されているか免疫染色を用いて同定する。本実験によりこれまで不明であった SCCA が易再発性，悪性化の指標として有用であるかを明らかにする。なお実験 (2), (3) については，内反性乳頭腫，癌化部分を有する内反性乳頭腫，浸潤性上顎癌，副鼻腔炎，内反性乳頭腫の周辺粘膜をサンプルとして用いる。

4. 研究成果

(1) Retrospective な内反性乳頭腫の手術症例の検討：

22 例の手術症例について検討を行った。22 例中、血中扁平上皮癌抗原 (SCCA) の上昇を示した症例は 18 例 (81.8%) であった。内反性乳頭腫再発例では 90.3% であった。一方、上顎癌 11 例で 27.2%、副鼻腔炎 22 例で 0% であり、内反性乳頭腫診断、再発診断に有用であった。SCCA サブタイプ SCCA1、2 の遺伝子発現は内反性乳頭腫では副鼻腔癌や副鼻腔炎と比較し 10 倍以上多かった。mRNA 発現の SCCA2/1 比は、内反性乳頭腫と副鼻腔炎では同等であったが、副鼻腔癌で有意に高値を示し、悪性化と関連する可能性が示唆された。

(2) 生検・摘出標本を用いた HPV、EBV 感染有無とウイルス数の検討：
内反性乳頭腫 13 例を検討し、HPV16 を 4 例に HPV33 を 2 例に認め、HPV 陽性率は 46.1%

であった。一方、上顎癌(11例)で27.3%、副鼻腔炎(39例)で7.6%にHPV16の感染を認めた。EBVは内反性乳頭腫、上顎癌、副鼻腔炎のいずれでもLMP-1mRNA発現を90%以上の症例で認めた。

(3) HPV16陽性サンプルについてウイルスコピー数測定:
内反性乳頭腫では50ng genomic DNA 当たり406.2コピー、上顎癌で236コピー、副鼻腔炎では7.8コピーであり、内反性乳頭腫で最もコピー数が多くみられた。また、内反性乳頭腫の一部に癌化がみられた症例ではウイルスコピー数は1524.1と高値で、また、ホストゲノムへのインテグレーションがみられた。以上より、血中扁平上皮癌抗原の測定が内反性乳頭腫診断に有用であること、また、乳頭腫発生、癌化に乳頭腫ウイルス、特にHPV16が関与している可能性が強く示唆された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

Deng Zeyi, Masahiro Hasegawa et al, Viral load, physical status, and E6/E7 mRNA expression of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma, Head&Neck, 査読有, 35, 2013, 800-808

Mikio Suzuki, Masahiro Hasegawa et al, Squamous cell carcinoma antigen inverted papilloma, Am J Rhinol Allergy, 査読有, 26, 2012, 365-370

Masahiro Hasegawa, Deng Zeyi et al, human papillomavirus load and

physical status in sinonasal inverted papilloma and squamous cell carcinoma, Rhinology, 査読有, 50, 2012, 87-94

鈴木幹男, 長谷川昌宏, 鼻副鼻腔内反性乳頭腫の診断と治療 - 扁平上皮癌抗原とヒト乳頭腫ウイルス感染を中心に - ,耳鼻咽喉科展望, 査読有, 105巻, 2012, 705-716

[学会発表] (計2件)

Masahiro Hasegawa, Deng Zeyi et al, Indication of planned neck dissection for oropharynx squamous carcinoma by positron emission tomography and human papillomavirus infection, EUROGIN2013, 平成25年11月3日

Mikio Suzuki, Masahiro Hasegawa et al, Human papillomavirus load and physical status in sinonasal inverted papilloma and squamous cell carcinoma, EUROGIN2013, 平成25年11月3日

[図書] (計1件)

鈴木幹男, 長谷川昌宏, 鼻副鼻腔乳頭腫の内視鏡手術の実際 JOHN'S, 24巻, 2008, 1013-1017

[産学財産権]

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

6. 研究組織 研究代表者

長谷川 昌宏 (HASEGAWA, Masahiro)

琉球大学・医学研究科・助教

研究者番号：10347156