

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792181

研究課題名(和文) 口腔扁平上皮癌頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤の遺伝的多様性の検索

研究課題名(英文) Investigation of the genetic diversity of extracapsular spread of the cervical lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma

研究代表者

道川 千絵子 (Michikawa, Chieko)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：00622648

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：癌治療の国際的ガイドラインにおいて、口腔癌頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤は、術後治療立案のための重要な臨床的マーカーである。その病態は複数あると推察されているものの、1つの因子として捉えられている現状がある。申請者は、口腔扁平上皮癌の被膜外浸潤がどのようなリンパ節にどのように生じるのか、病理組織学的・形態学的な詳細検索を続け、被膜外浸潤陽性リンパ節・陰性リンパ節、両者の違いについての解析を行い、被膜外浸潤陽性リンパ節のタイプ分類を試行錯誤した後、最終的に臨床経過との関連性が強い被膜外浸潤陽性リンパ節の分類を同定した(2015年日本・アジア頭頸部癌合同学会アンダー40 シンポジウム採択)。

研究成果の概要(英文)：According to NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology™, the extracapsular spread (ECS) of lymph node metastasis is one of the most significant factors for planning post-operative therapy in head and neck cancer. Although pathological status of ECS is considered to have various types, the details remain unclear. Therefore we use ECS as just one type of pathological status at present. In order to understand what kind of lymph nodes develop ECS and how ECS develops, I investigated the status of metastatic lymph nodes pathologically and morphologically in detail. Then I analyzed all available information about metastatic nodes and the correlation with prognosis to find the useful and simple classification of ECS. Finally I found that the patients with a specific nodes which develop ECS had lower survival rates regarding both overall survival and disease-free survival.

研究分野：医歯薬学

キーワード：被膜外浸潤 頸部リンパ節転移 口腔癌 扁平上皮癌

1. 研究開始当初の背景

研究開始当時、頭頸部癌において、頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤の存在は、最も重要な予後不良因子であることが多くの論文により報告されていた。具体的には、被膜外浸潤を生じる症例は、再発・遠隔転移を生じやすく、生じない症例に比べて、生存率が有意に低下すると言われている。そこで、申請者は、被膜外浸潤についての研究を開始し、2011年、所属病院の対象とする口腔扁平上皮癌患者においても被膜外浸潤が最も重要な予後不良因子であることを実証するとともに、遺伝子診断により被膜外浸潤を予測できる可能性を報告した (Br J Cancer. 2011 Mar 1; 104(5):850-5)。しかし、被膜外浸潤のメカニズムは明らかではない。

2. 研究の目的

(1) 申請者は、被膜外浸潤を生じる癌の遺伝的多様性のシステム化が口腔癌治療戦略の鍵だと考え、一連の研究の最終目標は、被膜外浸潤を生じる患者の術前選択と対象患者への分子標的薬を含めた集学的治療法の開発と適用と定めた。そのために、被膜外浸潤と強く関連する新たな遺伝子群を同定し、より正確な被膜外浸潤(予後)予測を試みること、被膜外浸潤を呈する癌の遺伝的多様性のシステム化を試み、被膜外浸潤の生じるメカニズムを解明することを目的とした。

(2) そして、被膜外浸潤と強く関連する遺伝子群を実験系より抽出する前準備として、被膜外浸潤がどのようなリンパ節にどのように生じるのか、転移リンパ節を病理組織学的・形態学的に詳しく検索し、被膜外浸潤を生じた癌をまず、マクロのレベルで分類することを第1の目的とした。

(3) 申請者は、2011年、口腔舌扁平上皮癌63検体の原発巣に対し、D2-40というモノクローナル抗体を使用して、免疫染色を行った (Oral Oncol. 2012 Apr;48(4):320-4.)。この

D2-40が癌細胞においても発現しており、その発現量と頸部リンパ節転移や不良な予後との関連性が近年報告されている。そこで、癌の持つ遺伝的多様性の原発巣における表現型を探索し、口腔癌原発巣における癌の性質のさらなる解明も第2の目的とした。

3. 研究の方法

1) 被膜外浸潤に強く関連する遺伝子群の同定のためには、被膜外浸潤を生じた口腔扁平上皮癌特異的に発現が増加あるいは減少している遺伝子群を見つける必要がある。そこで、まず、術前治療をしていない口腔扁平上皮癌15検体(頸部リンパ節転移がない群、頸部リンパ節転移はあるが被膜外浸潤は生じていない群、頸部リンパ節転移があり、さらに被膜外浸潤を生じている群)を目標に、原発巣切除検体を採取した。しかし、2012年度採取の検体は、研究グループの他の研究者が緊急に別の目的に使用した。また、2013年秋頃、Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) サンプルから抽出できるごく少量のゲノムDNA(80ng)から、信頼性のあるゲノムコピー数解析を行うことを可能とするテクノロジーが開発された。実際に、研究グループが、所属病院のFFPEサンプルに対しても解析可能かどうか試行したところ、信頼性のある結果が得られた。さらに、申請当時考えた実験手法より、目的に最も近接できる可能性のある実験手法を用いた研究が大きく前進しつつあったため、計画そのものの立て直しを行った。

(2) 同時に、口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤がどのようなリンパ節にどのように生じるのか、病理組織学的・形態学的な詳細検索を続けた。癌治療の国際的ガイドラインにおいて、口腔癌頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤は、術後治療立案のための重要な臨床的マーカーとされ、その病態は複数あると推察されているものの、現状は、被膜外浸潤を1つの因子と

して捉えられているままである。本研究は、19 症例、74 個の転移リンパ節を対象としてスタートさせたのだが、対象とした転移リンパ節をパソコンに取り込み、解析ソフトを用いた詳細解析を行い、被膜外浸潤陽性リンパ節・被膜外浸潤陰性リンパ節、両者の違いについて解析を行った。これをもとに、症例数を増やした後、被膜外浸潤陽性リンパ節のみを対象を絞り、転移リンパ節内の腫瘍占有面積に対する被膜外浸潤部の面積など様々な因子を抽出し、被膜外浸潤陽性リンパ節のタイプ分類を報告した。その後、臨床的に有用性の高い(実用的な)分類を目指すべく、各症例の分類も模索、カプランマイヤー法を用いてリンパ節タイプと経過に関する生存解析を行った。単純で他人に理解しやすく、また、臨床上有用性のある被膜外浸潤分類を確立するために、どのように解析すべきかの検討、および、実際の解析に時間がかかった。

(3) 一方、口腔癌原発巣における癌の性質のさらなる解明のため、脈管侵襲(リンパ管侵襲/静脈侵襲)と頸部リンパ節転移や不良な予後にも注目してきたが、様々な癌において、癌周囲のリンパ管密度と頸部リンパ節転移との関係を示す報告が多く見られたため、リンパ管密度を実際にカウントし、リンパ管侵襲および頸部リンパ節転移との関連性を学会報告した。また、リンパ管の同定に用いたモノクローナル抗体 D2-40 は、リンパ管内皮細胞特異的マーカーとして開発されたのだが、近年、癌細胞においても発現しており、発現と頸部リンパ節転移や不良な経過と関連性があることが報告されているため、実際に発現についても検索した。

4. 研究成果

(1) 口腔癌頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤と関連する遺伝子群を抽出する目的に予定していた実験は、手法そのものを見直し、遺伝子変異解析へ計画変更したが、現在、対象を選択し、計画を進めている。

(2) 最終的に臨床経過との関連性が強い被膜外浸潤陽性リンパ節の分類を同定した(2015 年日本・アジア頭頸部癌合同学会アンダー40 シンポジウム採択)。

(3) 口腔舌扁平上皮癌原発巣におけるモノクローナル抗体 D2-40 の発現様式と癌の悪性度や頸部リンパ節転移との関連性を学会にて報告した。以上の内容を現在まとめている。

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 件)

[学会発表](計 8 件)

Chieko Michikawa, Narikazu Uzawa, Jun Sumino, Takuma Morita, Yasuyuki Michi, Yoshio Ohyama, Kunihiro 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 3 日-6 日. 神戸国際会議場.

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 29-30. 奈良県新公会堂.

道川千絵子, 鶴澤成一, 炭野淳, 守谷友二郎, 森田琢磨, 出雲俊之, 山口朗, 原田清 : 被膜外浸潤の病態に関する検討

第 32 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会, 2014 年 1 月 23-24. 札幌.

Chieko Michikawa, Narikazu Uzawa, Jun Sumino, Yujirou Moriya, Takuma Morita, Toshiyuki Izumo, Akira Yamaguchi, Kiyoshi Harada

: Classification of extracapsular spread of the lymph node metastasis in oral cancer

21st International conference on oral and maxillofacial surgery,
October 21st, 22nd, 23rd and 24th 2013.
Barcelona

道川千絵子、鶴澤成一、炭野淳、守谷友二朗、森田琢磨、出雲俊之、山口朗、原田清
:被膜外浸潤の分類に関する検討

第 47 回 NPO 法人日本口腔科学会関東地方部会, 2013 年 9 月 28 日, 医科歯科特別講堂.

道川千絵子、鶴澤成一、炭野淳、守谷友二朗、森田琢磨、原田清、山口朗、出雲俊之
:被膜外浸潤を生じた転移リンパ節の分類.
第 37 回 日本頭頸部癌学会, 2013 年 6 月 13-14 日, 新宿.

道川千絵子、鶴澤成一、炭野淳、守谷友二朗、山城正司、原田清、山口朗、出雲俊之
:被膜外浸潤を生じたリンパ節についての検討.

第 31 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会,
2013 年 1 月 24 日, 秋葉原.

道川千絵子、鶴澤成一、栢森高、炭野淳、守谷友二朗、山城正司、原田清、山口朗、出雲俊之
舌扁平上皮癌におけるポドプラニン発現様式の検索

第 57 回 日本口腔外科学会総会・学術大会,
2012 年 10 月 20 日, 横浜.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 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 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:

番号:
出願年月日:
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

道川 千絵子 (MICHIKAWA Chieko)
東京医科歯科大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号: 00622648

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: