

平成30年6月25日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462602

研究課題名(和文) 中・下咽頭表在癌における上皮浸潤機構の解明

研究課題名(英文) Mechanism of subepithelial invasion in the superficial pharyngeal cancer

研究代表者

楯谷 一郎 (Tateya, Ichiro)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：20526363

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：中下咽頭癌組織において、上皮内部と上皮浸潤部の組織を採取し、その脂質発現と組織内での分布をイメージングマスマススペクトロメトリー法を用いて網羅的に解析した。その結果、上皮浸潤部ではアラキドン酸を含む3種類のリン脂質が有意に多く発現をしていることを世界で初めて見出した。アラキドン酸は炎症に関与しており、癌が上皮浸潤していく際には炎症機転が働きながら進行していくことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Superficial-type pharyngeal squamous cell carcinoma (STPSCC) is defined as carcinoma in situ or microinvasive squamous cell carcinoma without invasion to the muscular layer. Imaging mass spectrometry (IMS) is suitable for phospholipid analysis because this technique can distinguish even fatty acid compositions and was conducted to elucidate the distribution of PC species in STPSCC tissues. STPSCC tissue sections from five patients were analyzed, and we found that three kinds of phosphatidylcholine species containing arachidonic acid were increased in the subepithelial invasive region. These results may be associated with the invasion mechanism of hypopharyngeal carcinoma.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：咽頭癌 表在癌 上皮浸潤 アラキドン酸 イメージングマスマススペクトロメトリー

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は発見された時点ですでに病期が進行していることが多く、そのため手術により嚥下や発声の機能を犠牲にすることを余儀なくされるケースが多かった。嚥下や発声の機能を温存しつつ癌を治療するには早期発見・早期診断が欠かせない。我々は NBI (narrow band imaging) の技術を用いることで従来の内視鏡では見つかることの出来なかった微細な頭頸部表在癌を検出できることを明らかにした。NBIとは観察光の分光特性を最適化設計させることにより粘膜表面の微細な血管構築を観察する技術である。これにより癌に特徴的な微細な血管異常を見出し、微細な表在癌を早期に診断して内視鏡下あるいは直達喉頭鏡下で経口的に小侵襲で切除することが可能となってきた。NBI、内視鏡下切除技術ともわが国発の技術であり、本邦における表在癌の診断・治療は世界をリードする立場にある。

頭頸部表在癌に対する経口的切除例の生存率はほぼ100%と非常に予後良好である。我々は2007年より頭頸部表在癌に対する内視鏡下手術を行なっている。すでに手術件数は300件と全国で有数の症例数であるが、手術件数はさらに増加傾向にあり、益々症例数が増えるものと思われる。

一方、症例の蓄積により問題点も明らかとなってきている。表在癌の発見により特に咽頭癌の症例数が飛躍的に増えているが、これらすべてが放置すると浸潤癌に移行し予後に関わるものであるかは不明であり、over indication な症例が含まれている可能性は否定できない。表在癌は多発例が多く、特に飲酒により顔が赤くなるアルデヒド脱水素酵素2型のヘテロ欠損者において、咽喉頭・食道で表在癌が多発しやすいことが知られている。表在癌に対する内視鏡下切除は侵襲の小さい治療ではあるが、下咽頭などの多発病変を切除した場合に狭窄を来し嚥下障害を生じる症例が出てきており、不要な手術を避ける方策が必要である。また一方で、表在癌の内視鏡手術後に後発頸部リンパ節転移を来す予後不良な症例も経験されている。

一般に、上皮内癌が進行すると基底膜を破壊して上皮浸潤を来し、浸潤癌へと移行し

ていく。表在癌の上皮浸潤を解析することで、浸潤癌への移行のメカニズムの解明、さらには予後因子の同定などにより表在癌・浸潤癌に対する治療戦略の確立に寄与することが期待される。表在癌の予後を予め予測できれば、後発リンパ節転移など予後不良と予想される症例には予防的頸部郭清などを追加し、また予後良好な多発病変に対しては経過観察を行なうなどの症例に応じた治療戦略を取ることが可能になる。今後NBIの普及による表在癌発見の機会の増加に伴い益々症例数は増えると予想され、表在癌の治療戦略を確立することは重要な課題である。

一方、ゲノムプロジェクトにより遺伝子発現の網羅的解析が可能となったが、遺伝子発現が必ずしもタンパク等の最終産物の発現と一致しないことが明らかとなり、最終産物を網羅的に解析する手法の利用が必要となった。ノーベル賞受賞者の田中耕一氏が開発したMALDI法による質量分析計は、数千の既知/未知の分子の解析・同定を可能にするものであり、ポストゲノム時代におけるプロテオーム解析の中心的手法として広く用いられている。しかし質量分析計では物質の同定は可能であっても、その物質が切片上のどこに分布するのか位置情報を解析することは不可能であった。イメージングマスマスペクトロメトリー法は顕微鏡下にレーザーのスポットを2次的に走査することで組織切片上の任意の分子の位置情報を同定するものであり、次世代の解析器機としてここ数年国内外で開発が進められている。この方法により数十 μm の解像度で数千〜数万の既知あるいは未知の分子(タンパク、糖鎖、脂質)の発現分布を一度に得ることが可能となった。我々は頭頸部外科領域において初めてイメージングマスマスペクトロメトリー法を腫瘍解析に導入し、浜松医科大学分子解剖学教室との共同研究で甲状腺乳頭癌症例3例を用いて予備実験を行なったところ、乳頭癌組織に特異的に発現する分子や、逆に癌組織には発現しない分子を明らかにした。

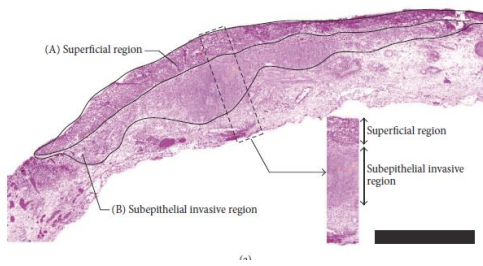
2. 研究の目的

本研究は上皮浸潤部における分子の発現を網羅的に解析し、上皮浸潤に関わるメカニズムの解明を行うことを目的として行った。

3. 研究の方法

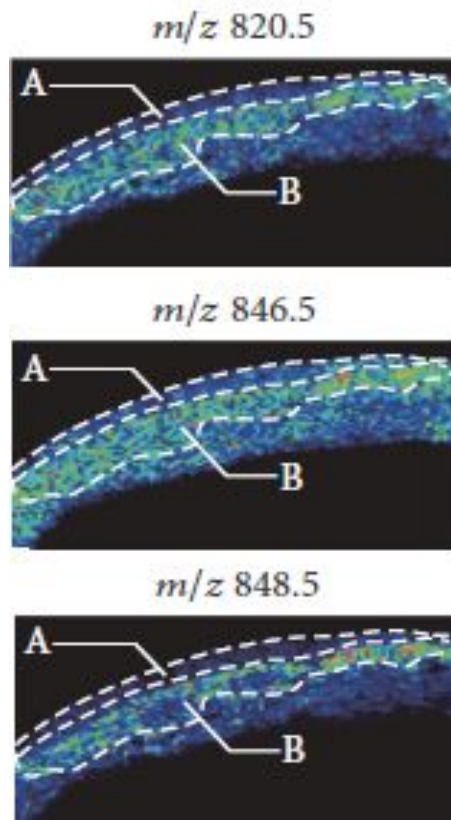
中下咽頭癌の癌病変において、上皮内部と上皮浸潤部の組織（図1）を採取し、その脂質発現と組織内での分布をイメージングマススペクトロメトリー法を用いて網羅的に解析した。イメージングマススペクトロメトリー法は顕微鏡下にレーザーのスポットを2次的に走査することで組織切片上の任意の分子の位置情報を同定するものであり、次世代の解析器機としてここ数年国内外で開発が進められている。この方法により数十 μm の解像度で数千 数万の既知あるいは未知の分子（タンパク、糖鎖、脂質）の発現分布を一度に得ることが可能である。

図1



4. 研究成果

図1



上皮浸潤部において m/z 820.5, m/z 846.5, m/z 848.5 の分子が有意に発現していることが分かった。（図1）

さらに各分子について質量分析を進めたところ、それぞれホスファチジルコリン(PC) (16:0/20:4)、PC (18:1/20:4)、PC (18:0/20:4)であることが明らかとなった（図2、図3）。

図2

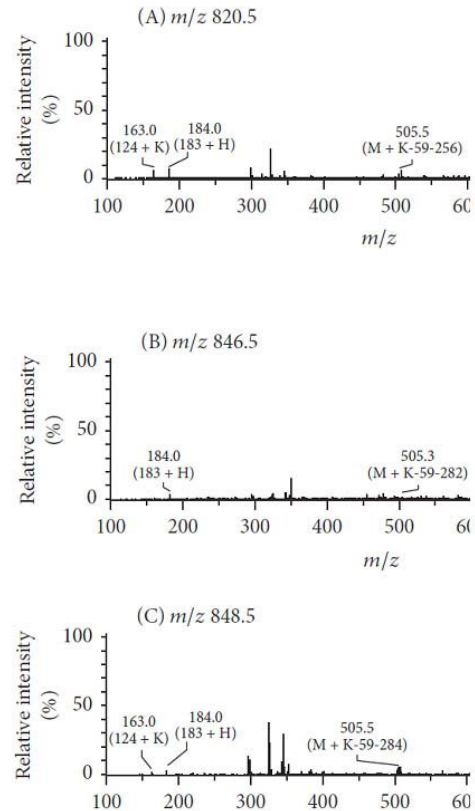
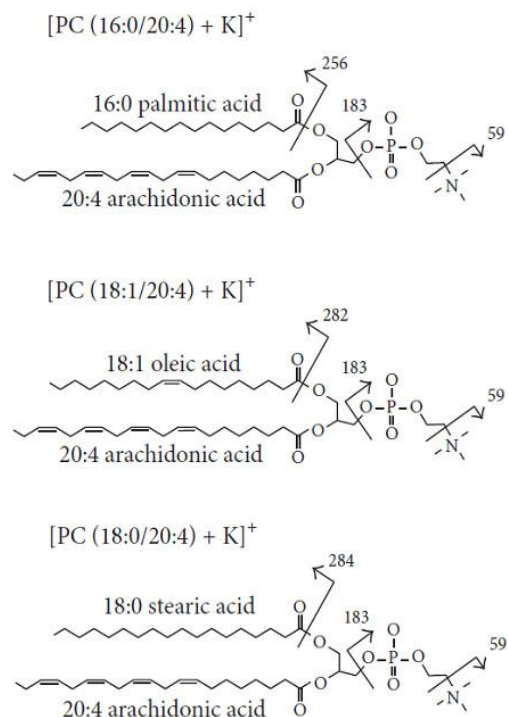


図3



これらはいずれもアラキドン酸を含むリン脂質であった。アラキドン酸は炎症に関与していることが知られており、癌が上皮浸潤していく際には浸潤の先端部で炎症機転が働きながら進行していくことが示唆された。

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 1 件)

Ishikawa S, Tateya I, Hayasaka T, Shinriki S, Masaki N, Hirano S, Kitamura M, Muto M, Morita S, Setou M, Ito J. The Distribution of Phosphatidylcholine Species in Superficial-Type Pharyngeal Carcinoma. Biomed Res Int. 2017;2017:5387913. doi: 10.1155/2017/5387913.

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

楯谷一郎 (TATEYA, Ichiro)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号：20526363

(2)研究分担者

武藤 学 (MUTO, Manabu)
京都大学・医学研究科・教授
研究者番号：40360698

北村守正 (KITAMURA, Morimasa)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：60543262

岸本 曜 (KISHIMOTO, Yo)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：80700517

平野 滋 (HIRANO, Shigeru)
京都府立医科大学・医学研究科・教授
研究者番号：10303827

森田真美 (MORITA, Mami)
京都大学・医学研究科・医員
研究者番号：90637597

石川征司 (ISHIKAWA, Seiji)
京都大学・医学研究科・医員
研究者番号：70570159