

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861705

研究課題名(和文) 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の分類

研究課題名(英文) Classification 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) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌において、頸部リンパ節転移巣における被膜外浸潤の存在は、唯一、単独で術後化学放射線療法が推奨される世界標準マーカーである。申請者は、転移リンパ節の詳細検索の結果、短径が小さいにも関わらず被膜外浸潤を生じている症例は、リンパ節の短径が大きくて被膜外浸潤を生じている症例に比べて有意に経過不良を呈することを確認した。さらに、被膜外浸潤と関連する遺伝子変異を同定する目的に、口腔癌原発巣、および、被膜外浸潤部を含むリンパ節転移巣からDNAを抽出、次世代シーケンス解析を実施した。

研究成果の概要(英文)：Extracapsular spread (ECS) of cervical lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma (OSCC) is independently recognized as the only marker of World Standard for planning post-operative chemoradiotherapy. I investigated the status of metastatic lymph nodes pathologically and morphologically in detail, and found that the patients with small nodes but ECS positive showed significantly worse outcome compared to those with ECS positive larger nodes. Moreover, I performed next generation sequencer using genomic DNA from primary OSCC and metastasis with ECS to seek genetic alterations associated with ECS.

研究分野：医歯薬学

キーワード：被膜外浸潤 分類 リンパ節 口腔癌 扁平上皮癌

## 1. 研究開始当初の背景

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。このことから、研究開始当初より、被膜外浸潤は、唯一単独で術後の化学放射線療法が推奨される世界標準マーカーである。しかし、この病態は複数あると推察されているものの、詳細は明らかではなく、被膜外浸潤は1つの因子として、ひとくくりに捉えられているのが現状である。

また、申請者は、所属病院の対象とする口腔扁平上皮癌患者において、ある特定の遺伝子の数的異常と被膜外浸潤の存在が密接に結びついていることを報告した (Br J Cancer. 2011)。しかし、以降、被膜外浸潤と関連する遺伝子異常に関する報告はほとんど見られない。一方、次世代シーケンサーの普及とともに、癌の分子的機序の解明を目指す包括的プロジェクトがスタートし、頭頸部癌原発巣における分子的小および臨床的な特徴についての包括的な解析が報告されはじめた。(Science. 2011 / Nature. 2015)。

## 2. 研究の目的

(1) 現在、ひとくくりに捉えられてい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、被膜外浸潤を生じたリンパ節自体を分類することを第1の目的とした。

(2) そして、上記のリンパ節の分類に基づいて、被膜外浸潤を生じた症例を分類することを第2の目的とした。

(3) さらに、被膜外浸潤と関連する遺伝子変異を同定することを第3の目的とした。

この一連の研究の最終目標は、被膜外浸潤の生じるメカニズムを解明し、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に結びつけていくことである。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ている。

## 3. 研究の方法

(1) 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行った。本研究は、33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一つ一つパソコンに取り込み、解析ソフトを用いて解析を行い、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。検討した項目は、転移リンパ節内の腫瘍占有面積(A)および被膜外浸潤部の面積(B)、転移リンパ節の短径、長径、また、腫瘍内外比((A)に対する(B)の百分率)などである。これをもとに、被膜外浸潤陽性リンパ節のみを対象を絞り、症例数を増やした後、被膜外浸潤陽性リンパ節のタイプ分類を検討した。

(2) 臨床的に有用性の高い(実用的な)分類を目指すために、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を十分に行った。

(3) 一方、被膜外浸潤を生じた口腔舌扁平上皮癌3症例の原発巣、すべてのリンパ節転移巣、正常リンパ節(コントロール)に対し、ゲノムDNAを抽出し、50種類の遺伝子を対象とした既成パネルを用いて、ディープシーケンス解析を実施した。加えて別の口腔扁平上皮癌20症例における原発巣新鮮凍結検体、リンパ節転移巣、血液(コントロール)からのゲノムDNAに対しては、癌ゲノム・アトラス(The Cancer Genome Atlas:TCGA)をはじめとする癌の分子的機序の解明を目指す包括的プロジェクトにより、頭頸部癌において高頻度で変異が報告されているTP53を含む18遺伝子を対象にしたディープシーケンス解析を実施した。

#### 4. 研究成果

(1) 最終的に、術前治療を伴わない 63 症例、229 個の転移リンパ節のうち 149 個の被膜外浸潤陽性リンパ節を対象として、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、病理組織学的・形態学的な詳細検索を行った結果、リンパ節の短径に着目、短径により被膜外浸潤を 2 分類する有用性を確認した。

(2) すなわち、短径が小さいにも関わらず被膜外浸潤を生じている症例は、リンパ節の短径が大きくて被膜外浸潤を生じている症例に比べて有意に経過不良を呈することを確認、学会にて報告(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)するとともに、論文にまとめた。

(3) 原発巣は、腫瘍内不均一性の検索のため、複数ヶ所からの DNA 抽出を試みたが、パラフィン包埋サンプルからは高品質な DNA が得られず、新鮮凍結検体を用いた。このため、1 か所のみデータとなった。リンパ節に関しては、新鮮凍結検体採取は困難であったため、パラフィン包埋サンプルを使用した。現在、結果を確認し、癌ゲノム・アトラス(The Cancer Genome Atlas: TCGA) データとの整合性を検索している最中である。

#### 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 2 件)

Morita T, Uzawa N, Mogushi K, Sumino J, Michikawa C, Takahashi KI, Myo K, Izumo T, Harada K.

Characterizing Genetic Transitions of Copy Number Alterations and Allelic Imbalances in Oral Tongue Carcinoma Metastasis.

査読有り. Genes Chromosomes Cancer. 2016 Dec;55(12):975-986. doi: 10.1002/gcc.22395.

Moriya Y, Uzawa N, Morita T, Mogushi K, Miyaguchi K, Takahashi K, Michikawa C, Sumino J, Tanaka H, Harada K.

The high-temperature requirement factor A3 (HtrA3) is associated with acquisition of the invasive phenotype in oral squamous cell carcinoma cells.

査読有り. Oral Oncol. 2015 Jan;51(1):84-9. doi: 10.1016/j.oraloncology.2014.10.001.

[学会発表](計 7 件)

森田琢磨、鵜澤成一、茂柳薫、名生邦彦、高橋謙一郎、道川千絵子、炭野淳、出雲俊之、原田清: 舌癌同一患者における原発巣-転移リンパ節間のゲノム異常の相同性と相違性について。

第 53 回 日本癌治療学会学術集会, 2015 年 10 月 29-31 日, 国立京都国際会館(京都府)。

道川千絵子、道泰之、友松伸允、森田琢磨、大山巖雄、遠山怜、出雲俊之、原田清: 舌尖部に生じた嚢胞腺癌の 1 例。

第 60 回 日本口腔外科学会総会・学術大会, 2015 年 10 月 16-18 日, 名古屋国際会議場(愛知県)。

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(兵庫県)。

道川千絵子、鵜澤成一、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(奈良県)。

鵜澤成一、道川千絵子、炭野淳、森田琢磨、高橋謙一郎、道泰之、大山巖雄、名生邦彦、原田清：口腔癌頸部リンパ節転移被膜外浸潤の新たな分類に関する検討。

第 59 回日本口腔外科学会総会・学術大会，2014 年 10 月 17-19 日．幕張メッセ(千葉県)．

鵜澤成一、高橋謙一郎、炭野淳、守谷友二郎、森田琢磨、道川千絵子、原田清：口腔癌多段階発癌過程における遺伝子発現データベースの構築。

第 38 回日本頭頸部癌学会，2014 年 6 月 12-13 日．東京ファッションタウンビルホール(東京都)．

稲葉好則、道泰之、水谷美穂、道川千絵子、大上えりか、金丸智紀、鵜澤成一、原田清：口腔内に生じた紡錘細胞癌の 2 症例。

第 197 回日本口腔外科学会関東支部学術集会，2014 年 6 月 7 日．自治医科大学(栃木県)．

## 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