

課題番号 : 26指117

研究課題名 : 代謝・免疫異常に関わる臨床的因子及び組織の遺伝子発現解析による食道手術ハイリスク症例の検討

主任研究者名 : 山田和彦

分担研究者名 : 河村由紀

キーワード : 食道癌、ハイリスク、DNAメチル化

研究成果 :

①論文: 関連したデータの一部は基礎研究や臨床課題で多数論文されている(計14本)。臨床的には特に食道切除後に頻発する術後頻脈に対する Landiolol hydrochloride は有用であることを報告した。(Mori K, Yamada K et al) また研修医2年生である荒武俊伍君からは重度心合併症を有する食道切除術の管理という論文タイトルで論文受理された。他ハイリスクである食道サルベージ手術のデータに関しても共著者として参加した。

②学会発表: 食道癌手術の周術期の成績について後向きに検討し、特に全身合併症を有する症例での成績を中心に学会発表を行った。第69回日本消化器外科学会総会では、『Clavien-Dindo分類を用いたハイリスク食道切除症例とは?』の演題(パネルディスカッション)で、食道癌切除症例から、術前のデータ、全身合併症の程度による術後合併症の発生に有意な術前因子の検出を試みた。第68回日本食道学会では『糖尿病の存在と食道癌手術の影響』の演題で、糖尿病の存在が食道癌の周術期治療にどのように影響しているかを報告した。糖尿病の存在は術前より心臓や肝、腎に影響を及ぼしており、術後は合併症全体と縫合不全に大きな影響を示していた。また、糖尿病以外の全身合併症も同時に有する場合、Clavien-Dindo分類Vの大きな合併症を起こしやすいことが判明した。この場合、リスクを十分に把握した上で、2期分割や縮小手術を選択すべきと考察した。第67回日本胸部外科学会では『術前肝疾患の存在と食道癌手術の影響』(ワークショップ)の演題で、食道癌における肝疾患の存在について発表した。その他にも共同演者として、研修医やレジデントにハイリスク食道癌症例の検討の発表(心疾患やサルベージ他)をしてもらっている。

③ハイリスク食道癌症例での他科にまたがるカンファレンスを不定期ではあるが、開催している。症例1: 食道気管瘻を有する根治的放射線治療後の食道切除、広背筋充填を施行した症例、症例2: 活動性肺結核の治療後の食道サルベージ手術症例。今後さらに拡大してパラメディカルを含めた周術期治療チームの結成にむけて会合を行っている。リハビリテーション部門とは食道癌切除後の嚥下に関するdiscussionを継続しており、術後の食事開始後の栄養内容に関して2パターンの食事内容を開始して前向きに検討している。これらの内容は今秋の国立病院学会で報告予定である。さらに、主任研究者自ら栄養サポートチーム(NST)に入り、食道癌症例だけではなく、消化器外科、消化器内科の症例にまで幅を広げて他科にまたがる栄養指導を行っている。

④食道手術での切除材料を用いて、ハイリスクに至る分子機序解析を行った。加齢性変化等のハイリスク要因はエピジェノミク修飾を介して遺伝子発現の変化をもたらしていると考えられるので、次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析と平行してメチローム解析を施行した。網羅的遺伝子発現解析、DNAメチル化解析データをバイオインフォマティクス解析により統合した結果、食道扁平上皮癌においてはDNAメチル化亢進により正常な重層扁平上皮に発現するデスモソーム関連分子periplakin (PPL)の発現がエピジェネティックに転写抑制されることを見出した。食道粘膜有棘層に見られるデスモソームが発達した細胞間接着構造は、食物嚥下時等にかかる機械的刺激への耐性に寄与していると考えられているが、PPLを食道扁平上皮癌細胞に強制発現すると、導入前には殆ど見られないデスモソーム様構造が認められる様になり、培養時に細胞が重層化した。細胞外マトリクスへの接着性亢進、移動性低下も同時に認められ、これらのエピジェネティック異常は悪性形質の獲得にも関与が示された(Otsubo T, Yamada K, Kawamura YI, et al. Cancer Medicine, 2015)。現在、パラフィン切片を用いた後向き検討により、様々な臨床病理学的因子との関連を検証中である。PPL遺伝子のDNAメチル化異常は我々の他には報告されていないことから、現在汎用されているメチル化アレイ法で見出されていないエピゲノム異常が次世代シーケンサーを用いた我々の解析方法で新たに見出される可能性は高いと考えられ、更に解析を進め、ハイリスクに関連するエピジェネティック異常を網羅的に探索中である。

Subject No. : 26指117

Title : 代謝・免疫異常に関わる臨床的因子及び組織の遺伝子発現解析による食道手術ハイリスク症例の検討

Researchers : Kazuhiko Yamada, Yuki I. Kawamura

Key word : Esophageal cancer, high risk, DNA methylation

Abstract :

Papers : 14 papers were accepted (total 14 papers).

We discussed high risk patients by esophagectomy. High risk esophageal cases were recognized cardiac, pulmonary, liver cirrhosis, salvage operation (after definitive chemoradiation therapy).

Mori K and Yamada K reported “Landiolol hydrochloride for early postoperative tachycardia after transthoracic esophagectomy”. Landiolol could therefore be an efficient and safe choice for the management of postoperative tachycardia after esophagectomy.

Watanabe M and Yamada K reported “Outcomes of lymphadenectomy for lymph node recurrence after esophagectomy or definitive chemoradiotherapy for squamous cell carcinoma of the esophagus”. Secondary or salvage lymphadenectomy can be performed safely in the selected patients. Secondary lymphadenectomy achieves locoregional disease control and results in a favorable long-term outcome, particularly for cervical node recurrence. Watanabe M and Yamada K reported “Salvage Esophagectomy After Definitive Chemoradiotherapy for Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma: Who Really Benefits from this High-Risk Surgery?” Based on both short and longterm outcomes, patients with pretreatment or preoperative T1-2 tumors and those with relapse after CR are good candidates for salvage esophagectomy.

To identify genes whose expression are perturbed by abnormal DNA methylation in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC), we performed integrative transcriptome and methylome sequencing by serial analysis of gene expression (SAGE) and methyl-DNA immunoprecipitation (MeDIP) analysis, respectively. We found that mRNA expression of periplakin (PPL), a desmosome-related molecule, was significantly reduced in ESCC tissues compared with that in normal tissues. We examined the methylation status of the *PPL* gene by bisulfite-pyrosequencing and found that the frequency of *PPL* methylation was higher in ESCC tissues than in normal tissues. Human KYSE270 ESCC cells do not stratify under ordinary culture conditions and rarely produce desmosomes; however, the forced expression of PPL promoted cell stratification. PPL induction also promoted adhesion to extracellular matrix but delayed cell migration. Ohtsubo and Kawamura YI reported “Aberrant DNA hypermethylation reduces the expression of the desmosome-related molecule periplakin in esophageal squamous cell carcinoma”. These results first indicate that the downregulation of PPL mediated by DNA hypermethylation, which may play an important role in the loss of ESCC stratification and likely in metastatic phenotype.

Researchers には、分担研究者を記載する。

26-27年度

ハイリスク症例の検討と管理、実践

食道癌の病変組織を用いた解析

データの集積からの検討
ハイリスクカンファ
周術期治療チーム
(山田、前原、岡本、秋山、小島、横井、猪狩、峯)

ハイリスク食道癌における
増殖・分化シグナル異常
(河村)

異常を惹起するメカニズム解析
影響を受ける因子の解析

【26年度の達成状況】

- ・ チーム医療の実践・症例検討
- ・ 臨床研究の承認・開始
- ・ 症例のデータベース化
- ・ 検体を用いた分子分子生物学的解析

異常細胞の同定・機能解析
網羅的ゲノム・エピゲノム解析

病態のメカニズム解明

病態の分子メカニズム解明

27-28年度

ハイリスク症例の臨床的、基礎的なデータから
(河村・山田)

臨床情報との関連性
同一患者の生検を用いた経時的・比較解析

ハイリスク食道癌の周術期管理の向上、予後向上

臨床研究承認（平成26年8月28日承認済み）

食道癌データベースの構築と周術期合併症ハイリスク群 の割り出し（番号1622）

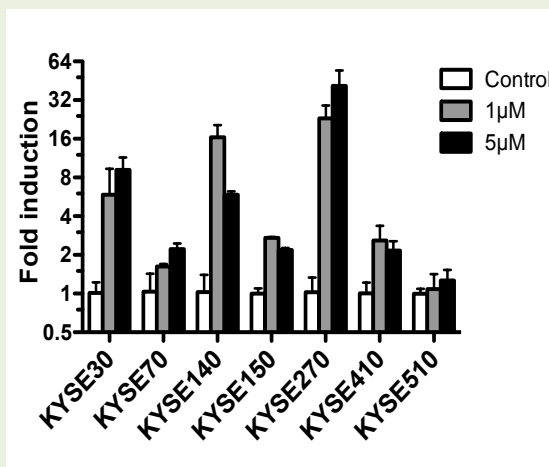
- 目的 当院における過去の食道癌治療のデータベースを作成する。これを基に、周術期合併症の発生と周術期管理に関係する因子との関連を検索する。さらに病理組織切片を作成して、組織の病理・病態生理学的特質から予後や周術期ハイリスク症例に関係する因子を抽出することを試みる。
- 材料 データウェアハウス等より検索した1990年1月から2014年5月までの食道癌症例約1400症例のうち、外科手術、内科的治療を行った約200症例
 - (1)診療録からの食道癌の治療の成績をデータベース化する
 - (2)手術切除標本の解析
- 方法
 - (1)診療録からの食道癌症例のデータベースの構築
 - (2)周術期合併症からみたハイリスク症例の割り出し
 - (3)診療記録より、食道手術後の術後合併症有無を調査する。各術式や術前合併症、検査所見、臨床病理学的因子との関連についても検討する
 - (4)食道癌の予後を規定する臨床病理学的因子の割り出し：病理診断用に用いられたホルマリン固定パラフィンブロックから未染プレパラートを作製し、以下の検討を行う。
 - 全身合併症に起因するマーカーや予後因子となるマーカーの検討（免疫染色法）
 - 免疫染色法による未分化細胞マーカー及び免疫担当細胞・炎症細胞の同定（免疫染色法）
 - (5)全身合併症に起因するマーカーや予後因子となるマーカーとDNAメチル化の関連解析

論文

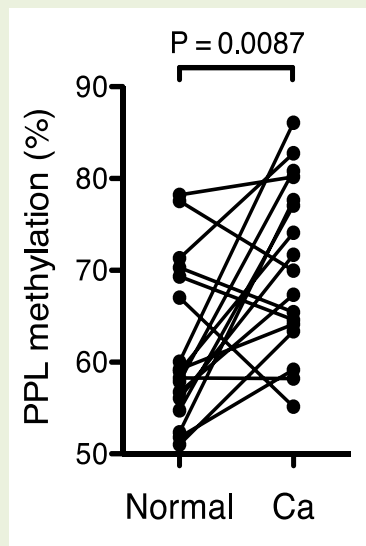
論文タイトル	著者	掲載誌	年
Long-term outcome of esophagectomy for primary malignant melanoma of the esophagus: a single-institute retrospective analysis	K. Harada, , K. Yamada,	Disease of Esophagus	2015
Thoracic Lymph Node Involvement in Adenocarcinoma of the Esophagogastric Junction and Lower Esophageal Squamous Cell Carcinoma Relative to the Location of the Proximal End of the Tumor	S. Mine, K. Yamada,	Ann Surg Oncol	2014
Landiolol hydrochloride for early postoperative tachycardia after transthoracic esophagectomy	K. Mori • K. Yamada	Surg Today	2014
Intussusception causing postoperative intestinal obstruction following free jejunum transfer in adults: two case reports and review of the literature	A. Matsumoto,., K. Yamada,	Surgical Case Reports	2014
Salvage Esophagectomy After Definitive Chemoradiotherapy for Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma: Who Really Benefits from this High-Risk Surgery?	M. Watanabe,, K. Yamada,	Ann Surg Oncol	2015
Outcomes of lymphadenectomy for lymph node recurrence after esophagectomy or definitive chemoradiotherapy for squamous cell carcinoma of the esophagus	M. Watanabe • K. Yamada	Gen Thorac Cardiovasc Surg	2014
Oesophageal cancer with an aberrant right subclavian artery accompanied by a thoracic duct anomaly	S. Oya,, K. Yamada	European Journal of Cardio-Thoracic Surgery	2015
Aberrant DNA hypermethylation reduces the expression of the desmosome-related molecule periplakin in esophageal squamous cell carcinoma.	Otsubo T, Yamada K, Kawamura YI.	Cancer Medicine	2015
Retrotransposition of long interspersed nucleotide element-1 is associated with colitis but not tumors in a murine colitic cancer model.	Otsubo T,, Kawamura YI,	PLOS ONE	2015
Therapeutic adenoviral gene transfer of a glycosyltransferase for prevention of peritoneal dissemination and metastasis of gastric cancer.	Kawamura YI, Dohi T.	Cancer Gene Ther	2014
The epigenetic regulator Uhrfl facilitates functional expansion of colonic regulatory T cells.	Obata Y, Kawamura YI,	Nature Immunology	2014
Pathological activation of canonical nuclear-factor κ B by synergy of tumor necrosis factor α and TNF-like weak inducer of apoptosis in mouse acute colitis.	Dohi T, Kawamura YI,	Cytokine	2014
重度心合併症を有する食道切除術の管理	荒武俊伍、山田和彦	日本臨床外科学会誌	2015
食道手術一合併症対処の各施設の工夫—一回神経麻痺 臨床解剖の理解と合併症の対応	山田和彦、山田純	手術	2015

食道扁平上皮癌の網羅的解析により、デスモソーム関連PPL分子のDNAメチル化異常による発現低下を初めて見いだした。

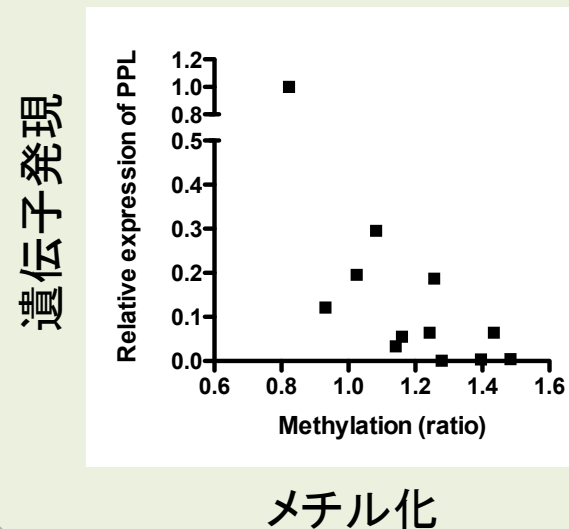
食道癌細胞株のDNAメチル化阻害剤処理



食道癌組織におけるDNAメチル化亢進



食道癌症例のDNAメチル化と発現解析

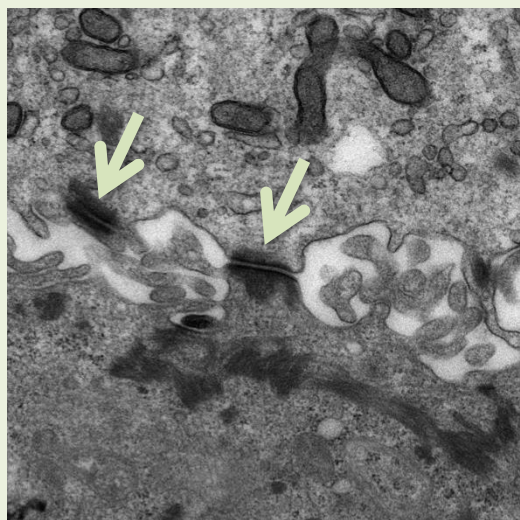


食道扁平上皮癌におけるデスモゾーム関連分子のDNAメチル化異常

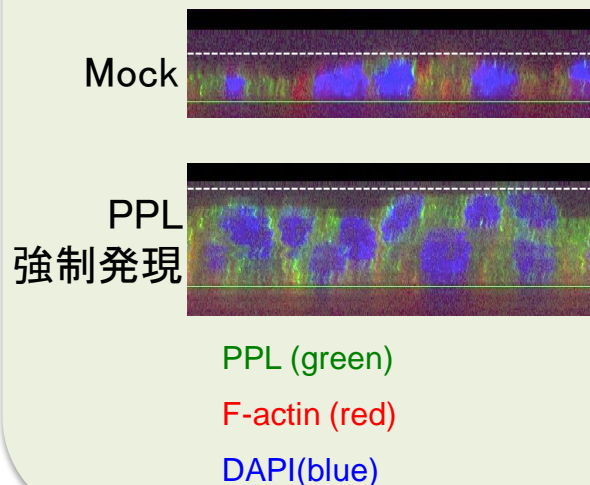
萩原輝記, 大坪武史, 中野(田村)美和, Miyake O, Hinohara C, Shimizu T, 山田和彦, 日野原千速, 三宅大, 清水利夫, 土肥多恵子, 河村由紀 第87回日本生化学会(京都), 2014年9月 (学会報告)

食道扁平上皮癌においてDNAメチル化亢進により発現抑制されていることを見出したデスモソーム関連分子PPLが、細胞の重層に必要な分子であり、細胞の遊走を制限していることを示した。PPL発現低下は癌の悪性形質の原因の一つと考えられる。

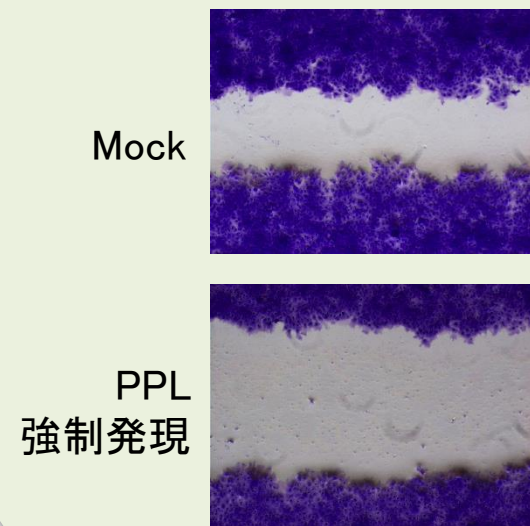
PPL強制発現により新たに出現したデスモゾーム



PPL強制発現により細胞重層が認められた



PPL強制発現により癌細胞遊走が阻止された



Aberrant DNA hypermethylation reduces the expression of the desmosome-related molecule periplakin in esophageal squamous cell carcinoma.

Otsubo T, Hagiwara T, Tamura-Nakano M, Sezaki T, Miyake O, Hinohara C, Shimizu T, Yamada K, Dohi T, Kawamura YI. *Cancer Medicine*, 2015, 4(3), 415-425 (論文報告済み)

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：26指117

研究課題名：代謝・免疫異常に関わる臨床的因子及び組織の遺伝子発現解析による食道手術ハイリスク症例の検討

主任研究者名：山田和彦

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Long-term outcome of esophagectomy for primary malignant melanoma of the esophagus: a single-institute retrospective analysis	K. Harada, S. Mine, K. Yamada, H. Shigaki, S. Oya, H. Baba, M. Watanabe	Disease of Esophagus	published	2015
Thoracic Lymph Node Involvement in Adenocarcinoma of the Esophagogastric Junction and Lower Esophageal Squamous Cell Carcinoma Relative to the Location of the Proximal End of the Tumor	Shinji Mine, Takeshi Sano, Naoki Hiki, Kazuhiko Yamada, Toshiyuki Kosuga, Souya Nunobe, Hironobu Shigaki, and Toshiharu Yamaguchi	Ann Surg Oncol	21	2014
Landiolol hydrochloride for early postoperative tachycardia after transthoracic esophagectomy	Kazuhiko Mori • Kazuhiko Yamada • Takashi Fukuda • Takashi Mitsui • Takayuki Kitamura • Daisuke Yamaguchi • Jiro Ando • Ikuo Wada • Sachiyo Nomura • Nobuyuki Shimizu • Yasuyuki Seto	Surg Today	44	2014
Intussusception causing postoperative intestinal obstruction following free jejunum transfer in adults: two case reports and review of the literature	A. Matsumoto, M. Watanabe, H. Shigaki, Y. Okumura, K. Nishida, S. Mine, K. Yamada, K. Yanaga, T.Sano	Surgical Case Reports	published	2014
Salvage Esophagectomy After Definitive Chemoradiotherapy for Patients with Esophageal Squamous Cell Carcinoma: Who Really Benefits from this High-Risk Surgery?	Masayuki Watanabe,, Shinji Mine, Koujiro Nishida, Kazuhiko Yamada, Hironobu Shigaki, Akira Matsumoto, and Takeshi Sano	Ann Surg Oncol	published	2015
Outcomes of lymphadenectomy for lymph node recurrence after esophagectomy or definitive chemoradiotherapy for squamous cell carcinoma of the esophagus	Masayuki Watanabe • Shinji Mine • Kazuhiko Yamada • Hironobu Shigaki • Yoshifumi Baba • Naoya Yoshida • Kiyoshi Kajiyama • Noriko Yamamoto • Takeshi Sano • Hideo Baba	Gen Thorac Cardiovasc Surg	62	2014
Oesophageal cancer with an aberrant right subclavian artery accompanied by a thoracic duct anomaly	Shuichiro Oyaa,b, Shinji Minea,* , Masayuki Watanabea and Kazuhiko Yamada	European Journal of Cardio-Thoracic Surgery	published	2015
Aberrant DNA hypermethylation reduces the expression of the desmosome-related molecule periplakin in esophageal squamous cell carcinoma.	Otsubo T, Hagiwara T, Tamura-Nakano M, Sezaki T, Miyake O, Hinohara C, Shimizu T, Yamada K, Dohi T, Kawamura YI.	Cancer Medicine	4	2015
Retrotransposition of long interspersed nucleotide element-1 is associated with colitis but not tumors in a murine colitic cancer model.	Otsubo T, Hagiwara T, Okamura T, Ishizaka Y, Kawamura YI, Dohi T.	PLOS ONE	10	2015
Therapeutic adenoviral gene transfer of a glycosyltransferase for prevention of peritoneal dissemination and metastasis of gastric cancer.	Kawamura YI, Adachi Y, Curiel DT, Kawashima R, Kannagi R, Nishimoto N and Dohi T.	Cancer Gene Ther	21	2014

研究発表及び特許取得報告について

The epigenetic regulator Uhrfl facilitates functional expansion of colonic regulatory T cells.	Obata Y, Furusawa Y, Endo TA, Sharif J, Takahashi D, Onawa S, Fujimura Y, Takahashi M, Ikawa T, Otsubo T, Kawamura YI, Dohi T, Tajima S, Ohara O, Hori S, Ohno H, Koseki H, Hase K.	Nature Immunology	15	2014
Pathological activation of canonical nuclear-factor κ B by synergy of tumor necrosis factor α and TNF-like weak inducer of apoptosis in mouse acute colitis.	Dohi T, Kawashima R, Kawamura YI, Otsubo T, Hagiwara T, Amatucci A, Michaelson J, Burkly LC.	Cytokine	69	2014
重度心合併症を有する食道切除術の管理	荒武俊伍、山田和彦、日野原千速、新里陽、森村隼人、橋本政典、矢野秀朗	日本臨床外科学会誌	76	2015
食道手術—合併症対処の各施設の工夫—反回神経麻痺 臨床解剖の理解と合併症の対応	山田和彦、山田純、藤谷順子、山内典恵、田山二郎、峯真司	手術	69	2015

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Aberrant DNA methylation of a desmosome-related molecule in esophageal squamous cell carcinoma.	Hagiwara T, Otsubo T, Tamura-Nakano M, Yamada K, Hinohara C, Miyake O, Shimizu T, Dohi T, Kawamura YI.	第87回日本生化学会大会	京都	2014年9月
Sialic-acid-binding Ig-like lectins, potential peripheral markers for mucosal damage of inflammatory bowel disease.	Kawamura YI, Maeyashiki C, Hagiwara T, Otsubo T, Akiyama J, Dohi T.	United Eurpean Gastroenterology 2014	Vienna	2014年10月
食道切除・再建術におけるリスク評価と治療成績向上に向けた対策 Clavien-Dindo分類を用いたハイリスク食道切除症例とは?	山田 和彦、峯 真司、山澤 邦宏、三宅 大、矢野 秀朗、清水 利夫、渡邊 雅之、比企 直樹、佐野 武、山口 俊晴	第69回日本消化器外科学会総会	福島	2014年7月
糖尿病の存在と食道癌手術の影響	山田 和彦、峯 真司、渡邊 雅之、大矢 周一郎、志垣 博信、日野原 千速、三宅 大、山澤 邦宏、矢野 秀朗、清水 利夫	第68回日本食道学会	東京	2014年7月
術前肝疾患の存在と食道癌手術の影響	山田和彦、峯真司、渡邊雅之、大矢周一郎、志垣博信、日野原千速、三宅大、山澤邦宏、矢野秀朗、橋本政典	第67回日本胸部外科学会	福岡	2014年10月
胸腔鏡下食道切除におけるポータブル型胸腔ドレナージ（トパーズThopaz）の使用経験	山田和彦、日野原千速、新里陽、山田玲央、山澤邦宏、三宅大、三原史規、合田良政、須田竜一郎、黒川敏昭、山田純、枝元良広、徳原真、橋本政典、矢野秀朗	第27回日本内視鏡外科学会総会	盛岡	2014年11月

研究発表及び特許取得報告について

集中治療室における食道癌切除後のポータブル型胸腔ドレナージ(トパーズThopaz)の使用	山田和彦、日野原千速、新里陽、荒竹俊伍、森村隼人、山田玲央、山澤邦宏、三宅大、三原史規、合田良政、須田竜一郎、黒川敏昭、山田純、枝元良広、徳原真、橋本政典、矢野秀朗	第76回臨床外科学会総会	福島	2014年11月
Salvage lymphadenectomy after definitive chemo-radiation therapy	K. Yamada, S. Mine, M. Watanabe, S. Oya, H. Shigaki, K. Yamasawa, C. Hinohara, O. Miyake, M. Hashimoto, H. Yano, T. Shimizu	国際食道疾患会議	バンクーバー	2014年10月
Intestinal mucosal injury induced by anti-cancer agents is mediated by TWEAK/Fn14 and IL-13.	Sezaki T, Hirata Y, Kawamura YI, Dohi T.	第43回日本免疫学会総会	京都	2014年12月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当無し				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日 (申請日)	出願国
該当無し				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。