

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、学会発表: 関連したデータの一部は基礎研究や臨床課題で学会報告や論文されている(計12本)。前年度に引き続きハイリスク症例におけるデータ、その取り組みについて研究発表を行っている。臨床的には特にハイリスクである食道癌手術に関する報告を行ってきた。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。食道癌手術の周術期の成績については、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31回日本静脈経腸学会総会では、食道癌切除後周術期におけるインスリン積極的導入の影響の演題で、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。第67回欧州食道学会では『肝疾患の存在と食道癌手術の影響』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をしてもらっている。
- ② 周術期治療チームの稼働: 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、開催してきた。昨年より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い、当院のような全身合併症が多い症例でも難易度が高い手術を行う病院としての特殊性を出した周術期管理ができないかと考えて、さまざまな職種を交えたチームでの効率的で効果的な術前評価・術前教育・術後管理ができるチーム医療を始めた。チームSCRUM(Team for Surgical Care, Recovery, Upgrading Management: 手術患者の回復を促進させるケアプログラム)を結成、運用を開始している。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。
- ③ 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明を行った。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, 4:415-425, 2015)。さらにパラフィン切片を用いた後ろ向き検討により、様々な臨床病理学的因子との関連を検証した。その結果、PPLの発現と予後や病期との間に関連が認められることが判明した。その内容は2016の外科学会及び論文に投稿中である。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く、更に解析を進め、トランスクリプトーム解析、メチローム解析データのバイオインフォマティクス統合解析により抽出した遺伝子についてPathway解析を行ったが、ハイリスクと関連する特性のPathwayは見出せなかった。現在、PPL以外の候補因子について、*in vitro*での機能解析と、パラフィン切片を用いた後ろ向き検討が順次進行中であり、新規癌抑制遺伝子が見つかった。

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 : 12 papers were accepted.

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

Enhanced recovery after surgery (ERAS) programs have been developed in colorectal surgery. We started the multidisciplinary conference about high-risk operation with many staff. In addition, the outpatient pre-operative care bundle was effective in preventing postoperative pneumonia in patients undergoing esophagectomy. In 2016 Jan, We introduced a multidisciplinary perioperative management team in the Surgical Care, Recovery, Up-grading Management (SCRUM) to improve short-term outcomes after esophagectomy.

We previously reported that expression of Periplakin (PPL), a member of the plakin family of proteins, was downregulated in esophageal squamous cell carcinomas (ESCCs) with DNA hypermethylation when compared to background mucosa. Forced expression of PPL in ESCC cell lines induced desmosome formation and a stratified structure, but enhanced growth in vitro. In this study, we further analyzed the relationships between PPL expression and the clinicopathological features of ESCC. PPL expression was evaluated by immunostaining ESCC samples from 41 patients who underwent surgery, and DNA methylation was analyzed using 40 frozen tumors from these patients. The percentage of cells in cancerous tissues that expressed PPL was generally decreased with enhanced DNA methylation, in comparison with individual background noncancer mucosa. However, the intensity of PPL staining in tumor tissues was diverse. High levels of PPL expression in tumors significantly correlated with the pT classification (larger primary tumor), the tumor location (upper thorax), advanced stages of cancer, and a poor prognosis. The diverse PPL staining intensity in tumors did not correlate with the degree of PPL methylation. High levels of PPL expression in ESCC indicated tumor progression, advanced stage cancer, and a poor prognosis, but the level of PPL methylation did not determine PPL expression levels in tumors.

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】

- ・ 周術期治療チームの結成
- ・ 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

#### 【27年度の達成状況】

- ・ チーム医療の実践・症例検討
- ・ 検体を用いた分子分子生物学的解析結果を、症例のデータベースを利用して検証

ハイリスク食道癌の周術期管理の向上、予後向上

## 27指117：代謝・免疫異常に関わる臨床的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：食道外科 山田和彦）

### 1) 食道癌手術の成績と関連する因子を後ろ向きに検討

- 糖尿病と合併症全体と縫合不全（第69回日本消化器外科学会総会にて報告）
- 肝疾患と重度合併症、縫合不全（第67回日本胸部外科学会にて報告）
- 根治的化学放射線療法後の高度狭窄、瘻孔と食道バイパス手術の術式  
（第70回食道学会にて報告）

### 2) 周術期治療チームをパラメディカルまで拡大結成

- チームカンファレンスの開催
- 食道癌手術後の嚥下についてに（リハビリテーション部門との連携）  
→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検討  
（第69回国立病院総合医学会にて金森らが報告）  
→主任研究者自ら栄養サポートチーム(NST)に入り、栄養指導を実施  
（NSTにおいては年に2回NST特別講演会を開催）

# 論文

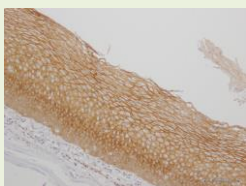
論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Long-term outcome of esophagectomy for primary malignant melanoma of the esophagus: a single-institute retrospective analysis	K. Harada, S. Mine, K. Yamada, H. Shigaki, S. Oya, H. Baba, M. Watanabe	Disease of Esophagus	published	2015
Intussusception causing postoperative intestinal obstruction following free jejunum transfer in adults: two case reports and review of the literature.	Matsumoto A, Watanabe M, Shigaki H, Okumura Y, Nishida K, Mine S, Yamada K, Yanaga K, Sano T.	Surg Case Rep	published	2015
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
Oesophageal cancer with an aberrant right subclavian artery accompanied by a thoracic duct anomaly	Shuichiro Oyaa, 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
Improvement in short-term outcomes after esophagectomy with a multidisciplinary perioperative care team	Watanabe M, Mine S, Nishida K, Yamada K, Shigaki H · Oya S, Matsumoto A, Kurogouchi T, Okamura A, Imamura Y, Sano T	Esophagus	published	2016
頸部郭清	山田和彦	がん研スタイル 癌の標準手術 食道癌	メジカルビュー社	2016
経裂孔的下部食道切除	山田和彦	がん研スタイル 癌の標準手術 食道癌	メジカルビュー社	2016
再建胃管癌の手術	山田和彦	がん研スタイル 癌の標準手術 食道癌	メジカルビュー社	2016
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
食道手術一合併症対処の各施設の工夫一反回神経麻痺 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

# 27指117:代謝・免疫異常に関わる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(分担研究者:研究所 消化器疾患研究部 河村由紀)

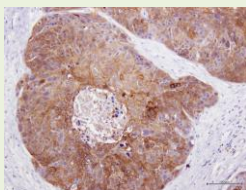
食道扁平上皮癌の網羅的解析により、デスモソーム関連PPL分子のメチル化異常による発現低下を初めて見いだした。機能的にはPPLは細胞の重層に必要な分子であり、細胞の遊走を制限していることを明らかにして、論文報告した。更に多数の手術検体を用いて臨床病理学的因子との関連を解析し、**PPL発現とプロモーター領域のDNAメチル化**が各々独立して**予後不良と関連**することを見出し、論文投稿中である。

## 手術切除標本における PPLの発現解析

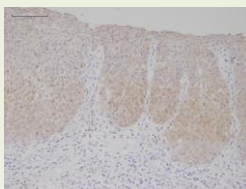
正常上皮



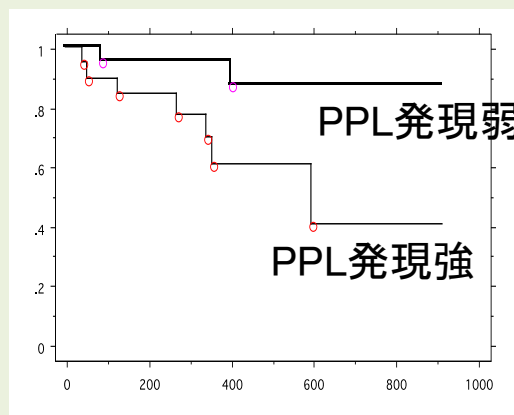
強陽性



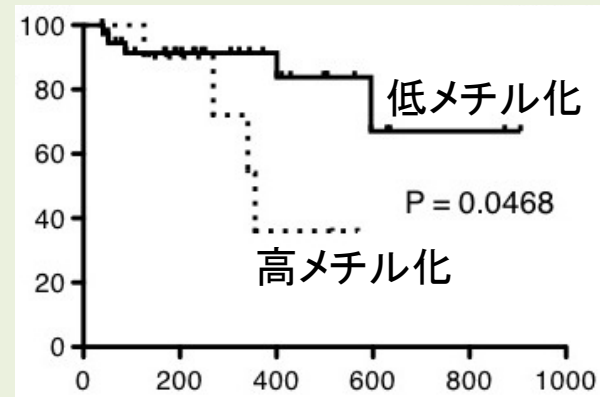
弱陽性



## PPL発現と周術期予後との関連



## PPL遺伝子プロモーター領 域のメチル化と予後



外科切除標本のPPL染色またはDNAメチル化解析により予後を予測できる可能性が示された

## 論文発表

- Yamada K, Hagiwara T, Sezaki T, Hirata Y, Igari T, Yokoi C, Yamada J, Nohara K, Yamashita S, Dohi T, Kawamura YI. Expression of the desmosome-related molecule periplakin is associated with advanced stage and poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. ***Submitted for publication***
- Otsubo T, Hagiwara T, Tamura-Nakano M, Sezaki T, Miyake O, Hinohara C, Shimizu T, Yamada K, Dohi T, Kawamura YI. Aberrant DNA hypermethylation reduces the expression of the desmosome-related molecule periplakin in esophageal squamous cell carcinoma. ***Cancer Medicine***, 2015, 4(3):415-425

## 学会発表

- 河村 由紀ら 食道癌のメチロームおよびトランスクリプトーム統合解析により見出されたホメオボックス遺伝子の発現低下 第88回日本生化学会大会(神戸)、2015
- 河村 由紀ら 食道癌のメチロームおよびトランスクリプトーム統合解析により見出されたデスモソーム関連分子periplakinの発現低下 第74回日本癌学会総会(名古屋)、2015
- Y.I. Kawamura et al. Integrative analysis of DNA methylome and transcriptome detected loss of a desmosome protein in esophageal squamous cell carcinoma, 米国消化器病学会(米国、ワシントンDC)、2015

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
Intussusception causing postoperative intestinal obstruction following free jejunum transfer in adults: two case reports and review of the literature.	Matsumoto A, Watanabe M, Shigaki H, Okumura Y, Nishida K, Mine S, Yamada K, Yanaga K, Sano T.	Surg Case Rep	published	2015
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
Oesophageal cancer with an aberrant right subclavian artery accompanied by a thoracic duct anomaly	Shuichiro Oyaa, 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
Improvement in short - term outcomes after esophagectomy with a multidisciplinary perioperative care team	Watanabe M, Mine S, Nishida K, Yamada K, Shigaki H・Oya S, Matsumoto A, Kuroguchi T, Okamura A, Imamura Y, Sano T	Esophagus	published	2016
頸部郭清	山田和彦	がん研スタイル 癌の標準手術 食道癌	メジカルビュー社	2016
経裂孔的下部食道切除	山田和彦	がん研スタイル 癌の標準手術 食道癌	メジカルビュー社	2016
再建胃管癌の手術	山田和彦	がん研スタイル 癌の標準手術 食道癌	メジカルビュー社	2016
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
食道手術一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



研究発表及び特許取得報告について

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
食道癌切除後周術期におけるインスリン積極的導入の影響	山田 和彦, 山田 純, 岡本 竜哉, 金森 功次, 野原 京子, 山下 智, 橋本 政典, 矢野 秀朗, 峯 真司, 渡邊 雅之	第31回日本静脈経腸栄養学会	福岡	2016/2月
消化器外科領域における医療安全の状況	山田 和彦, 山田 純, 野原 京子, 山下 智, 矢野 秀朗, 橋本 政典, 六ツ見しのぶ, 廣井 透雄, 蓑和田 滋, 岡本 竜哉	第69回国立病院総合医学会	札幌	2015/10月
高齢者・認知症患者に対する外科治療(心臓血管、呼吸器、消化器他) 精神疾患を有する上部消化管手術	山田 和彦, 山田 純, 野原 京子, 山下 智, 荒武 俊吾, 山田 玲央, 枝元 良広, 徳原 真, 橋本 政典, 矢野 秀朗	第77回日本臨床外科学会	福岡	2015年10月
根治的化学放射線療法後の高度狭窄、瘻孔に対する食道バイパス手術の成績	山田 和彦, 山田 純, 望月 理玄, 山田 玲央, 橋本 政典, 矢野 秀朗, 志垣 博信, 峯 真司, 渡邊 雅之, 瀬戸 泰之	第69回日本日本食道学会総会	横浜	2015/7月
食道扁平上皮癌でのデスモソーム関連分子periplakinとDNAメチル化異常について	山田 和彦, 河村 由紀, 萩原 輝記, 大坪 武史, 中野(田村) 美和, 瀬崎 拓人, 土肥 多恵子, 枝元 良広, 橋本 政典, 矢野 秀朗	第70回日本消化器外科学会総会	浜松	2015/7月
Survey and reporting system for patient safety at Gastrointestinal Surgical ward in Japan	K. Yamada, et al.	第4回国際医療安全学会	ウィーン	2015/9月
食道癌におけるメチル化分析から得られたデスモソーム関連分子periplakinと臨床病理学的検討	山田和彦、河村由紀、萩原輝記、大坪武史、中野(田村)美和、瀬崎拓人、土肥多恵子、山田純、野原京子、山下智、枝元良広、矢野秀朗、橋下政典	第116回日本外科学会	大阪	2016/4月
食道胃接合部癌におけるメチル化分析から得られたデスモソーム関連分子periplakinの意義	山田和彦、河村由紀、萩原輝記、大坪武史、土肥多恵子、山田純、野原京子、山下智、横井千寿、小島康志、橋本政典	第88回日本胃癌学会	別府	2016/2月
Perioperative management of esophagectomy with liver disease	K. Yamada, et al.	欧州食道学会	ストックホルム	2015/11月
Integrative analysis of DNA methylome and transcriptome detected loss of a desmosome protein in esophageal squamous cell carcinoma.	Kawamura YI, Otsubo T, Hagiwara T, Tamura-Nakano, Sezaki T, Hirada Y, Igari T, Yamada K, Dohi T	米国消化器病学会 (DDW2015)	ワシントン DC	2015/5月
食道扁平上皮癌のメチロームおよびトランスクリプトーム統合解析により見出されたデスモソーム関連分子periplakinの発現低下	河村由紀、大坪武史、山田和彦、猪狩亨、土肥多恵子	第74回日本癌学会	名古屋	2015/10月
食道癌のメチロームおよびトランスクリプトーム統合解析により見出されたホメオボックス遺伝子の発現低下	河村由紀、大坪武史、山田和彦、萩原輝記、大島健志朗、飯田慶、西方公郎、豊田哲郎、猪狩亨、山田純、野原京子、服部正平、土肥多恵子	第88回日本生化学会	神戸	2015/12月
消化器疾患で見られる糖鎖異常とエピジェネティックな遺伝子サイレンシング	河村由紀	第34回糖質学会(招待講演)	東京	2015/7月

## 研究発表及び特許取得報告について

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。