当科における中咽頭扁平上皮癌の臨床統計および p16 発現に関する検討

田 中 雄 也 山 下 拓 富 藤 雅 之
荒 木 幸 仁 塩 谷 彰 浩

要旨：今回われわれは、当科で一次治療を行った中咽頭扁平上皮癌症例 45 例について遡及的検討を行った。T1-T3 の症例には経口的咽喉頭部分切除術 (TOVS) あるいは化学放射線療法 (CRT) を行い、一部の T3, T4 の症例には外切開手術あるいは CRT を行った。病期Ⅲ, Ⅳ期では TOVS が CRT と比べ 3 年疾患特異的生存率が有意に良好で、TOVS の局所制御率が優れていた。病期Ⅲ, Ⅳ期の p16 陽性群の 3 年疾患特異的生存率は、陰性群に比べ良好な傾向を示し、p16 発現が進行癌における予後因子になりえることが示唆された。また、p16 陰性群では TOVS が予後向上に寄与しており、積極的に手術療法を行うことが望ましいと考えられた。

キーワード：中咽頭扁平上皮癌, 経口的咽喉頭部分切除術 (TOVS), 化学放射線療法 (CRT), p16

Summary Treatment outcomes for oropharyngeal squamous cell carcinoma and the influence of p16^{INK4a}: Yuya Tanaka, Taku Yamashita, Masayuki Tomifuji, Koji Araki and Akihiro Shiotani. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, National Defense Medical College

We retrospectively analyzed the oncologic outcomes of 45 patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) when treated primarily in our department between January 2005 and August 2012. Our treatment criteria included (1) transoral video-assisted surgery (TOVS) or concurrent chemoradiotherapy (CRT) for T1-T3 OPSCC patients, and (2) extended radical operation or CRT for selected T3 and T4 OPSCC patients. In the case of OPSCC patients in stage Ⅲ or Ⅳ, cause-specific survival of TOVS is significantly better than that of CRT, and TOVS has a better locoregional control rate. In the case of OPSCC patients in stage Ⅲ or Ⅳ, cause-specific survival of p16^{INK4a} positive cohort is better than that of p16^{INK4a} negative, although it is not statistically significant. Oncologic results of p16^{INK4a} negative cohort when treated with TOVS are good, which suggests our TOVS approach may improve the outcome of p16^{INK4a} negative patients.

Key words: oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC), transoral video-assisted surgery (TOVS), concurrent chemoradiotherapy (CRT), p16^{INK4a}

[Received Apr. 3, 2013, Accepted Jun. 8, 2013]

はじめに

近年、中咽頭扁平上皮癌と HPV との関連が指摘

され、HPV 関連の中咽頭扁平上皮癌は世界的に増加傾向である^{1,2)}。HPV 関連の中咽頭扁平上皮癌の予後は比較的に良好であると報告されており³⁻⁶⁾、HPV 非関連の中咽頭扁平上皮癌と発癌メカニズムが異なると考えられている^{7,8)}。また、p16 は HPV 陽性患者に高発現し、p16 染色は現在 HPV 陽性の

代替マーカーとして使用されている^{3-5,8)}。HPV と p16 発現の間に正の相関を認め、p16 発現も予後因子として有用だとの報告を多数認める^{4,5,8-11)}。われわれの施設では低侵襲手術として経口的に腫瘍を一塊に摘出する経口的咽喉頭部分切除術 (TOVS) を行っており、今回当科で一次治療を施行した中咽頭扁平上皮癌症例における p16 発現と予後との関連および TOVS の治療成績への寄与につき検討した。

対象と方法

2005 年 1 月から 2012 年 8 月までの 7 年 8 か月の間に当科で一次治療を行った中咽頭癌症例 52 例で、性別は男性 43 例、女性 9 例、年齢は 48 歳から 89 歳 (中央値 66.5 歳)、追跡期間は 7 か月から 92 か月 (中央値 36 か月) であった。病理組織型の内訳は、扁平上皮癌 45 例、リンパ上皮癌 3 例、腺様嚢胞癌 1 例、癌肉腫 1 例、悪性線維性組織球腫 1 例、粘表皮癌 1 例で扁平上皮癌がほとんどであった。以下、扁平上皮癌 45 例について後ろ向きに検討した。

TN 分類を表 1 に示す。T 分類では T1, T2 症例が多く、N 分類では N2 以上の N 進行例が 57.8% を占めた。病期は I 期: 6 例、II 期: 4 例、III 期: 7 例、IVA 期: 22 例、IVB 期: 2 例、IVC 期: 4 例で、stage III 以上の進行癌が 77.8% を占めた。垂部位別では、側壁型が 23 例、前壁型が 11 例、上壁型が 7 例、後壁型が 4 例で、他の報告と同様、側壁型が最も多く、全体の 51.1% を占めた。重複癌例は食道・胃癌合併 3 例、喉頭癌合併 1 例であった。

当科の主治療の選択指針としては、T1, T2 の症例は経口的咽喉頭部分切除術 (TOVS) および化学放射線療法 (CRT) を提示し、患者に選択してもらっている。深部進展のない T3 症例は TOVS の適応があり、一部の T3, T4 の症例は外切開による拡大切除術 + 再建術あるいは希望により CRT を選択している。導入化学療法 (Docetaxel + Cisplatin + 5-FU: TPF あるいは Cisplatin + 5-FU: PF) は、基本的に T・N 進行例の腫瘍縮小および遠隔転移予防を目的に行っており、TOVS を施行した 24 例中 10 例、CRT を施行した 19 例中 10 例に対して行った。

TOVS は、展開型咽喉頭鏡とビデオラリンゴシステムに細径の腹腔鏡用鉗子を組み合わせ、広い視野と両手操作、電気メスの使用を可能とした手術環境である。中・下咽頭、声門上癌の経口的切除のためわれわれが独自に開発したものである (図 1)。

p16 免疫染色方法を以下に示す。中咽頭生検・切除パラフィン包埋標本に対して 5 μ m の薄切切片を作成した。脱パラフィン後、オートクレーブによ

表 1 TN 分類 (頭頸部癌取り扱い規約改訂第 5 版)

	T1	T2	T3	T4a	T4b	計
N0	6	4	2	0	0	12
N1	0	5	2	0	0	7
N2a	0	3	1	0	0	4
N2b	2	6	3	2	1	14
N2c	0	3	1	3	0	7
N3	0	1	0	0	0	1
計	8	22	9	5	1	45

図 1 TOVS の手術外観

る抗原賦活を 10 分間行った。H₂O₂ 加メタノールにて内因性ペルオキシダーゼの不活化を行った後、10% ウサギ正常血清を室温で 20 分間反応させ、非特異反応のブロッキングを行った。一次抗体として抗マウスモノクローナル抗体 (sc-56330; Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA) を 100 倍希釈で使用し、室温で 30 分間反応させた。二次抗体は VECTASTAIN Elite ABC 試薬を室温で 30 分間反応させた。発色は ImmPACT DAB (SK-4105; Vector Laboratories Inc., Burlingame, California, USA) を使用した。判定は 2 人の検者が blind で行い、腫瘍面積の 10% 以上が濃く瀰漫性に染色されている場合を陽性とした (図 2)。

Kaplan-Meier 法を用いた 3 年疾患特異的生存率を病期別、治療別、p16 発現別において検討した。Log-rank 検定を行い、 $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとした。治療別検討では、拡大切除術 + 再建術の症例数は少ないため統計学的検討は行わなかった。病期分類は頭頸部癌取り扱い規約改訂第 5 版を用いた。

結 果

中咽頭扁平上皮癌全 45 例の 3 年粗生存率は 67.7

%, 3年疾患特異的生存率は71.0%であった。治療法の内訳に関しては, T3までは経口的切除術の症例が多く, T4は化学放射線療法の症例がほとんどであった(図3)。

(×40)

図2 p16免疫染色
p16陽性例を示す。

病期別検討では, TOVSとCRTの症例の偏りを是正するため双方の適応のある症例, すなわちT1-T3症例, 切除可能なN症例, M0症例, PS1以下の症例に限定した34症例について検討を行った。また, 進行度と予後の関係を明らかにするため, 病期Ⅰ, Ⅱ期および病期Ⅲ, Ⅳ期に分けて検討したところ, 病期Ⅰ, Ⅱ期における治療別3年疾患特異的生存率は, TOVSおよびCRTともに100%と良好であった。病期Ⅲ, Ⅳ期における治療別3年疾患特異的生存率は, TOVSは100%, CRTは62.5%であり, 有意にTOVSの予後は良好であった($p < 0.01$) (図4)。TOVS群とCRT群治療対象のⅢ期, Ⅳ期でのN分類は, TOVS群はN2b 7例, N2c 2例, N3 1例で(詳細はN0 2例, N1 3例, N2a 1例, N2b 7例, N2c 2例, N3 1例), CRT群はN2b 3例, N2c 2例(詳細はN0 1例, N1 2例, N2a 3例, N2b 3例, N2c 2例)→追加で頸部郭清したのはN1 1例, N2a 1例, N2b 2例, N2c 2例)で, N進行度に大きな差異は認めなかった。TOVS群とCRT群治療対象のⅢ期, Ⅳ期でのT分類に関しては,

図3 中咽頭扁平上皮癌45症例のT分類における治療法の内訳

図4 治療別3年疾患特異的生存率

図 5 T, N 分類別の p16 発現の比率
() は症例数を表す。

図 6 p16 発現別 3 年疾患特異的生存率

TOVS は T1 1 例, T2 9 例, T3 6 例 で, CRT は T1 1 例, T2 5 例, T3 2 例, T4 3 例で, T 進行度も大きな差異は認めなかった。局所制御率は TOVS で 95.7% (23 例中 22 例。残りの 1 例は再手術で局所制御可能であった), CRT で 63.6% (11 例中 7 例) であり, TOVS が CRT に比較して優れていた。CRT の死亡例 5 例のうち局所再発が 3 例で, 他 2 例は N 再発例であった。TOVS 施行例において, 頸部郭清術を 18 例に行った。また, 断端陽性例, 複数個のリンパ節転移, リンパ節節外浸潤例に対しては術後放射線照射を追加しており, 23 例中 9 例 (術後単純放射線照射 8 例, 術後 CRT 1 例) に行った。

p16 免疫染色の結果, p16 陽性群は 22 例, 陰性群

は 23 例であった。T 分類別の p16 発現の比率は, 陽性と陰性の間ではほぼ同じで, N 分類別の p16 発現の比率は, N 進行期で p16 陽性例が多かった (図 5)。病期 I, II 期の 3 年疾患特異的生存率は, p16 発現に関わらず 100% と良好で, 病期 III, IV 期の 3 年疾患特異的生存率は, p16 陽性群は 71.4%, 陰性群は 63.2% で, 症例数が十分ではないため有意差は認めないものの, p16 陽性群が陰性群に比較して良好な傾向を示した (図 6)。

治療法における p16 発現別 3 年疾患特異的生存率は, TOVS においては p16 発現に関わらず陽性, 陰性群とも 100% と良好で, CRT においては陽性群が 50.0%, 陰性群が 33.9% であった。CRT において統計学的有意差はないものの, p16 陽性群が陰

図 7 治療法における p16 発現別 3 年疾患特異的生存率

性群と比較して 3 年疾患特異的生存率が良好な傾向を認めた (図 7)。TOVS を選択した群においては、p16 陰性群の予後も良好であり、TOVS が p16 陰性群の予後向上に寄与していることが示唆された。TOVS における術後照射例は、p16 陽性は 12 例中 6 例 (50%)、p16 陰性は 11 例中 3 例 (27.3%) であった。

考 察

中咽頭扁平上皮癌に対する病態生理研究や治療法の進歩は近年目覚ましいものがあり、HPV との関連性^{1,2)}や CRT に関する大規模研究^{3,10,11)}、経口的切除法として Transoral laser microsurgery (TLM)¹²⁾や Transoral lateral oropharyngectomy (TLO)¹³⁾、TOVS¹⁴⁻¹⁶⁾、Transoral Robotic Surgery (TORS)^{17,18)}などの手術療法の開発に関する報告が多数ある。経口的アプローチは腫瘍の制御を可能にしつつ、合併症の軽減に大きく寄与しており、従来の外切開手術と比較し手術侵襲が少ないことがメリットである。しかし、中咽頭癌に対する手術アプローチとしては、従来の開口器ではアプローチが難しい部位も少なからず存在し、その場合に CRT を選択することも多い。TOVS は中咽頭の各亜部位に対して良好な視野を確保することが可能なため、当科では亜部位別に治療法を選択することはなく、切除可能な症例に対しては TOVS および CRT 両方の治療を患者に提示し選択してもらっている。また、TOVS のメリットとしては一塊切除により腫瘍の病理学的評価が容易で、厳密に術後放射線療法の適応を決めることが可能な点もある。病理学的評価の結果に応じて、術後放射線照射時に化学療法の併用を避け得る症例もあり、合併症の軽減に寄与していると考えて

いる。今回の検討では、TOVS 群が CRT 群に比較して 3 年疾患特異的生存率が有意に良好で、TOVS 群の局所制御率が優れていることが示唆された。Moore らの報告¹⁹⁾では、病期Ⅲ、Ⅳ期の中咽頭側壁型の扁平上皮癌 102 症例に対して TORS を行った結果、5 年粗生存率は 85%、局所制御率は 91.8%と良好であったと述べている。経口的アプローチによる腫瘍の制御は一つの選択肢になり得ると考えられる。後ろ向きの検討であり選択バイアスを排除することができないので、研究デザインを今後さらに検討する必要がある。

HPV 関連中咽頭扁平上皮癌の予後が良好であることは数多くの報告で述べられている³⁻⁶⁾。Ang らの報告¹¹⁾では、病期Ⅲ、Ⅳ期の中咽頭扁平上皮癌 721 症例に対して CRT を行った結果、p16 陽性の 3 年粗生存率は 83.6%、p16 陰性の 3 年粗生存率は 51.3%で、p16 陽性群が陰性群に比較して有意に良好な結果であった。今回のわれわれの検討でも、病期Ⅲ、Ⅳ期の進行癌において、p16 陽性群が陰性群に比較し 3 年疾患特異的生存率が良好な傾向を認めており、他の報告同様 p16 発現が予後因子になりえることが示唆された。

逆に、HPV 非関連中咽頭扁平上皮癌は喫煙に関連して発生していることが示唆されており、HPV 関連中咽頭扁平上皮癌に比較し予後不良であると報告されている^{6,11)}。われわれが開発した TOVS と類似した手術環境の TORS で切除可能な中咽頭癌 48 例を対象とした前向きコホート研究²⁰⁾では、p16 発現率や HPV 陽性率は疾患特異的生存率、無病生存率、粗生存率に影響を与えなかったと報告している。TORS で治療しうる中咽頭癌症例では p16 発現は予後因子にならないと結論付け、p16 および

HPV 陰性群において TORS が生存率向上に寄与している可能性がある」と述べている。HPV 非関連中咽頭扁平上皮癌は放射線抵抗性の因子があると考えられているので、経口的アプローチはそれら細胞を除去する点でメリットがあると思われる。今回われわれの検討でも、症例数は十分ではないが、p16 陰性群で TOVS が予後向上に寄与していることが示唆されており、p16 陰性群では積極的に手術を行うことが望ましいと考えられた。

ま と め

①経口的切除術が適応となる症例において、経口的切除術の局所制御率が優れていることが示唆された。

②病期別における p16 発現の治療成績への関与に関しては、病期Ⅲ、Ⅳ期の進行癌において p16 発現が予後因子になりえることが示唆された。

③治療法別における p16 発現の治療成績への関与に関しては、p16 陰性群において経口的切除術が予後向上に寄与していることが示唆された。p16 陰性群では積極的に手術療法を行うことが望ましいと考えられた。

本論文の要旨は、第 23 回日本頭頸部外科学会（2013 年 1 月、鹿児島）において口演した。

著者は申告すべき利益相反を有しない。

文 献

- Andl T, Kahn T, Pfuhl A, et al: Etiological involvement of oncogenic human papillomavirus in tonsillar squamous cell carcinomas lacking retinoblastoma cell cycle control. *Cancer Res* 58 : 5-13, 1998.
- Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al: Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: A systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14 : 467-475, 2005.
- Fakhry C, Westra WH, Li S, et al: Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 100 : 261-269, 2008.
- Licitra L, Perrone F, Bossi P, et al: High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 24 : 5630-5636, 2006.
- Weinberger PM, Yu Z, Haffty BG, et al: Molecular classification identifies a subset of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancers with favorable prognosis. *J Clin Oncol* 24 : 736-747, 2006.
- Kumar B, Cordell KG, Lee JS, et al: EGFR, p16, HPV Titer, Bcl-xL and p53, sex, and smoking as indicators of response to therapy and survival in oropharyngeal cancer. *J Clin Oncol* 26 : 128-137, 2008.
- Gillson ML, Koch WM, Capone RB, et al: Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 92 : 709-720, 2000.
- Smeets SJ, Hesselink AT, Speel EJ, et al: A novel algorithm for reliable detection of human papillomavirus in paraffin embedded head and neck cancer specimen. *Int J Cancer* 121 : 2465-2472, 2007.
- Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, et al: Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer* 120 : 1731-1738, 2007.
- Lassen P, Eriksen JG, Hamilton-Dutoit S, et al: Effect of HPV-associated p16^{INK4A} expression on response to radiotherapy and survival in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 27 : 1992-1998, 2009.
- Ang KK, Harris J, Wheeler R, et al: Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 363 : 24-35, 2010.
- Werner JA, Dunne AA, Folz BJ, et al: Transoral laser microsurgery in carcinomas of the oral cavity, oropharynx, and larynx. *Cancer Control* 9 : 379-386, 2002.
- Holsinger FC, McWhorter AJ, Ménard M, et al: Transoral lateral oropharyngectomy for squamous cell carcinoma of the tonsillar region: I. Technique, complications, and functional results. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 131 : 583-591, 2005.
- 塩谷彰浩：経口的喉頭・下咽頭部分切除術。耳鼻臨床, 101 : 68-69, 2008.
- Shiotani A, Tomifuji M, Araki K, et al: Videolaryngoscopic transoral en bloc resection of supraglottic and hypopharyngeal cancers using laparoscopic surgical instruments. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 119 : 225-232, 2010.
- Yamashita T, Tomifuji M, Araki K, et al: Endoscopic transoral oropharyngectomy using laparoscopic surgical instruments. *Head Neck* 33 : 1315-1321, 2011.
- O'Malley BW Jr, Weinstein GS, Snyder W, et al: Transoral robotic surgery (TORS) for base of tongue neoplasms. *Laryngoscope* 116 : 1465-1472, 2006.
- Weinstein GS, O'Malley BW Jr, Snyder W, et al: Transoral robotic surgery: radical tonsillectomy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 133 : 1220-1226, 2007.
- Moore EJ, Henstrom DK, Olsen KD, et al: Transoral resection of tonsillar squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 119 : 508-515, 2009.
- Quon H, Cohen MA, Montone KT, et al: Transoral robotic surgery and adjuvant therapy for oropharyngeal carcinomas and the influence of p16INK4a on treatment outcomes. *Laryngoscope* 123 : 635-640, 2013.