

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17232

研究課題名(和文) aPKC / の口腔癌悪性度への関与-予後サロゲートマーカーとしての有用性-

研究課題名(英文) Involvement of Atypical Protein Kinase C lambda/iota in Malignancy of Oral Squamous Cell Carcinoma

研究代表者

馬場 隼一 (BABA, Junichi)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：40644539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：上皮細胞極性タンパクであるaPKC / はその過剰発現がこれまでに種々のがんの増殖や予後と関与することが報告され注目されている。そこで本研究では、口腔扁平上皮癌におけるaPKC / の発現を解析し、臨床的な悪性度診断のバイオマーカーとしての可能性について検討した。口腔扁平上皮癌患者の病理組織標本に対してaPKC / 免疫組織学的染色を実施し、その発現度および局在を評価し、臨床病理学的因子ならびに予後因子との関連性を統計学的に解析した。その結果、aPKC / は口腔癌における重要な予後予測因子になりうる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔扁平上皮癌では低分化型ほど予後が悪いとされている。今回の研究では、低分化型においてaPKC / の過剰発現を認めたことから、aPKC / の過剰発現が予後予測因子となり得る可能性が示唆された。また、aPKC / の細胞局在が核優位になると5年累積無増悪生存率が低下したため、aPKC / の細胞局在は重要な予後予測因子になることが示唆された。口腔がんにおいては特異的な診断マーカーが存在しておらず、aPKC / が有用な診断マーカーとなり得る可能性、さらにはaPKC / をターゲットとした新たな分子標的薬開発にも繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Atypical protein kinase C / (aPKC /) is a cell polarity-regulator localized in the tight junction and apical membrane in epithelial cells. Previous studies suggested that aPKC / overexpression and abnormal localization were involved in tumor progression in several cancers. We investigated the relationship between aPKC / and oral squamous cell carcinoma (OSCC).

The correlation between the aPKC / expression and the clinicopathological parameters was examined using immunohistochemical analyses. In result, aPKC / expression was more intense in poorly differentiated OSCC and younger patients. Although expression of aPKC / was not significantly associated with clinical parameters, the correlation was found between aPKC / localization and progression-free survival. This is the first study to assess the association of aPKC / expression in OSCC with clinical results. Expression and localization of aPKC / may be involved in the degree of malignancy in OSCC.

研究分野：外科系歯学

キーワード：口腔扁平上皮癌 aPKC /

1 . 研究開始当初の背景

口腔癌は主に扁平上皮細胞に由来する . 治療の主体は手術療法であるが , 進行癌では術後の QOL 患者低下が問題となる . そのため早期発見・早期治療を可能とするバイオマーカーが強く求められている . 一方で , 比較的早期でも悪性度の高い口腔扁平上皮癌では再発・転移を生じ予後を著しく低下させる . そこで申請者は , 癌の進行 , 再発に関わっているといわれている aPKC-Par システムに着目した .

申請者は , 上皮細胞極性を規定する aPKC/Par 系の異常が , より悪性度が高い低分化型の口腔扁平上皮癌で有意に発現していることが判明していることを明らかにした . そこで本研究では , 浸潤・転移への aPKC / の関与とその分子メカニズムを口腔がん標本と aPKC / 高発現細胞株を用いて解明する . これにより , aPKC / の口腔扁平上皮癌の新たな予後サロゲートマーカーとしての有効性と分子標的治療への応用の可能性を検討する .

2 . 研究の目的

口腔がんは全部位のがんの約 1 ~ 2 % であるが , 罹患率は年々増加し 30 年前に比べて 2 倍となっている . 死亡者数も膀胱がんや子宮がんよりも多い . 口腔がんの治療として , 手術療法 , 化学療法 , 放射線療法が用いられるが , 進行口腔がんにおいては手術療法が不可避である . しかしながら , その部位の特徴から構音障害 , 咀嚼・嚥下障害 , 顔面の変形による審美障害など , 患者の術後 QOL の低下は他部位のがんと比較して顕著である . そこで我々は超選択的動注化学放射線療法を行い , 高濃度の抗癌剤を局所に投与することで化学放射線療法の治療効果を高め , 手術療法を回避することで機能温存を図ってきた (図 1) . しかしながら , 本法を用いても制御不能ほどの進行症例や再発症例などでは手術療法を施行せざるを得ず , QOL 低下の問題は依然として残っている .

そのため , がんをできるだけ早期に発見し , 早期に治療することが重要となる . しかしながら , 臨床の場では早期発見・早期治療をなし得た症例においても , しばしば短期間のうちに再発・転移を生じるケースを経験する . 現在臨床で用いられる CT , MRI , PET などの画像診断や , 生検による病理組織学的検討のみではこのような症例を事前に判別することは不可能である .

aPKC-Par システムは aPKC, Par3, Par6 等多細胞生物間で保存される複数の分子からなり , 種を問わず上皮細胞極性の制御に深く関わる (図 2) . 近年 , 我々を含む一連の研究から , 様々な上皮性癌でこのシステムの異常が起きていることが明らかになってきた . 特に aPKC / の過剰発現が上皮性癌の進行と再発に深く関わり , 予後の悪さと相関することもわかってきた (Kojima, Akimoto, Nagashima, et al. - Hum Pathol 2008, 39(6): 824-831. / Takagawa, Akimoto, Nagashima, et al. - Ann Surg Oncol. 2010, 17, 81-88.) . 本研究では , aPKC / 過剰発現型ヒト口腔扁平上皮癌培養細胞株を用いて aPKC / と口腔扁平上皮癌の進行・再発との因果関係のメカニズムを詳細に分子レベルで明らかにする .

3 . 研究の方法

図 1 . 超選択的動注化学放射線療法

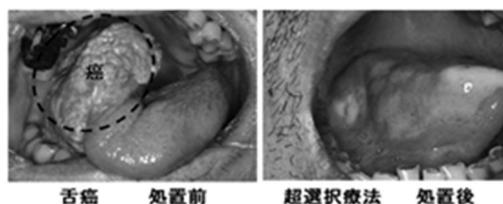
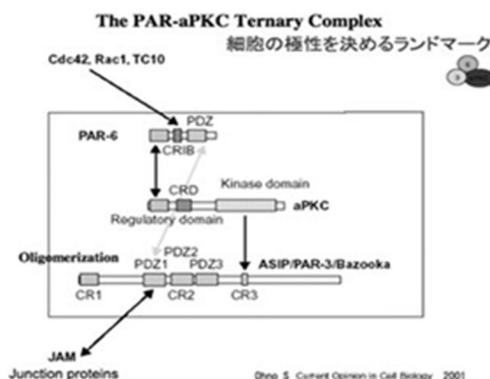


図 2 . aPKC/Par システム



2007年4月から2010年3月までに横浜市立大学附属病院歯科・口腔外科・矯正歯科において加療した口腔扁平上皮癌患者76名を対象とした。組織検体は生検標本，あるいは術前療法のない症例の手術標本を使用し，化学療法や放射線療法による組織検体への影響を排除した。これらの症例における臨床病理学的因子（年齢，性別，T分類，リンパ節転移の有無，病期分類，病理組織学的分類，喫煙歴）と予後因子について aPKC / の発現と局在との関連性を解析した。治療前のTNM分類は造影CT，MRI，PET-CT，および超音波検査（ultrasonography：US）を用いて判定した。病理組織学的分類はWHOのGrade分類に従った。観察期間は治療開始日から最終生存確認日とした。病理組織標本に aPKC / 免疫組織学的染色を行い，aPKC / の発現を半定量的に4段階に分類した（図3）。また，aPKC / の発現を認めた症例は，その細胞局在を核タイプ，細胞質タイプに分類した。

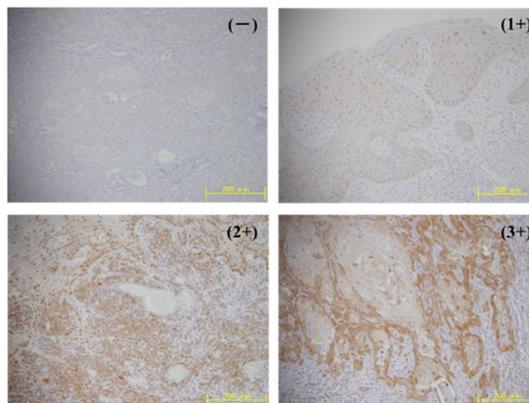


図3：aPKC免疫組織学的染色の評価（Baba J. et al, 2018より引用）

統計解析はPearsonのχ²検定を行い，n<5のものに関してはFisherの直接法を加味した。また，予後因子との比較検討のため，Kaplan-Meier法によって5年累積生存期間，5年累積無増悪生存期間，5年累積局所制御率期間，5年累積無再発生存期間を算出した。また，これらを aPKC / の判定とPKC / の細胞局在についてlog-rank検定を行い，有意差を検討した。いずれの統計解析も有意水準（p値）0.05未満で有意差ありと判定した。

4. 研究成果

全76症例中，aPKC / の過剰発現を示したものは28症例（36.8%）であった。病理組織学的分化度が低分化型の症例（p<0.01），60歳未満の症例（p<0.05），男性の症例（p<0.05）において有意に aPKC / の過剰発現を認めた。aPKC / の細胞局在と臨床病理学的因子の間には相関関係を認めなかった。治療成績と aPKC / 過剰発現の間には有意な相関関係を認めなかったが，aPKC / 細胞局在と5年累積無増悪生存率の間に有意な相関関係を認め，細胞質タイプと比較して核タイプで予後が悪かった（p<0.05：図4）。胃癌や乳癌などの報告と比較すると，口腔扁平上皮癌の aPKC / 発現は低かった。これは重層扁平上皮と腺上皮の細胞特性の違いによるものと考えられる。口腔扁平上皮癌では低分化型ほど予後が悪いとされている。今回の研究では，低分化型において aPKC / の過剰発現を認めたことから，aPKC / の過剰発現が予後予測因子となり得る可能性が示唆された。60歳以下の症例，男性の症例においても有意に aPKC / の過剰発現を認めたが，年齢や性別と予後の相関については諸説あり，意見の分かれるところである。また，aPKC / の細胞局在が核優位になると5年累積無増悪生存率が低下した。Mizushimaら（2016）は細胞局在が核優位になると予後が悪いと報告しており，aPKC / の細胞局在は重要な予後予測因子になることが示唆された。他の癌腫ではinterleukin-6（IL-6）やE-cadherin，EGFRなど，他のがん関連遺伝子と aPKC / の相関も報告されていることから，今後は他の発がん関連遺伝子と aPKC / の相関を検討する必要がある。また，口腔扁平上皮癌の増殖・転移と aPKC / の関与を細胞分子レベルで解明することで，aPKCをターゲットとした新たな分子標的薬開発にも繋がる可能性がある。

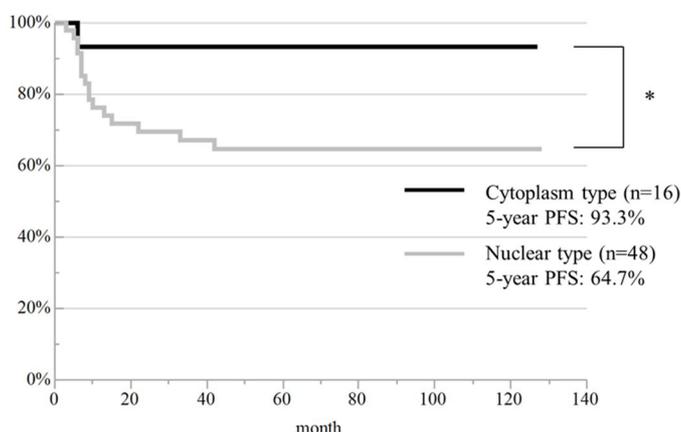


図4：aPKC / 細胞局在別の5年累積無増悪生存率（Baba J. et al, 2018より引用）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 BABA JUNICHI, KIOI MITOMU, AKIMOTO KAZUNORI, NAGASHIMA YOJI, TAGURI MASATAKA, INAYAMA YOSHIAKI, AOKI ICHIRO, OHNO SHIGEO, MITSUDO KENJI, TOHNAI IWAI	4. 巻 38
2. 論文標題 Atypical Protein Kinase C / Expression Is Associated with Malignancy of Oral Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 6291 ~ 6297
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.12985	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 馬場隼一, 來生知, 光藤健司
2. 発表標題 aPKC / の過剰発現は口腔扁平上皮癌の悪性度に関与する
3. 学会等名 第64回日本口腔外科学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------