

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592972

研究課題名(和文) aPKC / の発現・局在異常は口腔がんの新たな診断基準となり得るか？

研究課題名(英文) Overexpression of the atypical protein kinase C lambda/iota in oral squamous cell carcinoma is associated with degrees of malignancy

研究代表者

小泉 敏之 (KOIZUMI, Toshiyuki)

横浜市立大学・医学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：80323575

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：aPKC / は細胞極性の制御に必須の極性タンパク質であり、その過剰発現や局在異常が腫瘍の進展に関与することがこれまでの研究から判明している。そこでわれわれは、口腔扁平上皮癌におけるaPKC / の発現を免疫組織化学染色法を用いて評価した。その結果、低分化型の口腔扁平上皮癌においてaPKC / の過剰発現を認めた。また、60歳未満の症例においてaPKC / の過剰発現を認めた。このことにより、aPKC / の発現が口腔扁平上皮癌の悪性度診断の基準や化学療法の標的になり得ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Atypical protein kinase C lambda/iota (aPKC lambda/iota) is a cell polarity-regulating protein and is localized in the tight junction or apical membrane in the epithelial cell. Previous studies suggested that aPKC lambda/iota over-expression and abnormal localization were involved in tumor progression in some cancers. We investigated the correlation between the aPKC lambda/iota expression pattern and the clinicopathological parameters in oral squamous cell carcinoma (OSCC) cases immunohistochemically, and evaluated the utility of aPKC lambda/iota expression pattern as a biomarker for the degree of malignancy.

As a result, we found immunostaining for aPKC lambda/iota was more intense in poorly differentiated OSCC, compared with moderately- and well- differentiated cases. In addition, cases of younger ages showed intense immunostaining for aPKC lambda/iota than in older. These results suggest that aPKC lambda/iota overexpression might be useful to predict the clinical outcomes of OSCC.

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：口腔扁平上皮癌 aPKC / Cancer stem cell IL-6

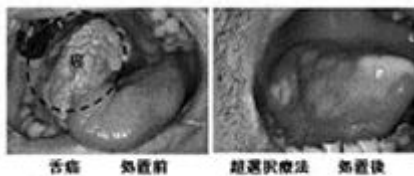
1. 研究開始当初の背景

口腔がんは主に扁平上皮細胞に由来する。進行症例や再発症例では手術療法の主体となるが、摂食・嚥下障害など術後の QOL 低下が問題となる。これを極力防ぐには早期に的確な診断を下し、適切な治療を行うことが望ましいが、現在臨床で用いられる診断方法ではこれは困難であり、新たな客観的診断方法の確立が望まれている。一方で上皮細胞極性を規定する aPKC/Par 系の異常は腫瘍の進展・転移に關与する。そこで本研究は口腔扁平上皮癌の臨床標本と培養細胞株を用いて本系の異常を分子レベルで検討し、新たな客観的診断法の確立を目指す。さらには分子標的治療への応用を検討する。

2. 研究の目的

口腔がんは全部位のがんのうちでは約 1 ~ 2 % であるが罹患率は年々増加し 30 年前に比べて 2 倍である。死亡者数も膀胱がんや子宮がんに比べても多い。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、その部位的特徴から構音障害、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治療体系に取り入れ、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な

図 1. 超選択的動注化学放射線療法



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口腔がんにおける問題点の 1 つである。

このような症例をできる限り減らすためには、がんの悪性度、特にリンパ節転移の存在を早期に把握し、適切な治療方法を選択することが重要となる。しかしながら、現在臨床において用いられている 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転移を含めた予後の予測に対する十分な診断精度を期待することは難しい。特に口腔がんにおいては特異的な診断マーカーが存在しないため、術者の主観的診断に依存しがちであり、医療機関によって臨床成績に大きな差が生じている。このような差異を解消するため、新たな客観的診断方法の確立が望まれている。

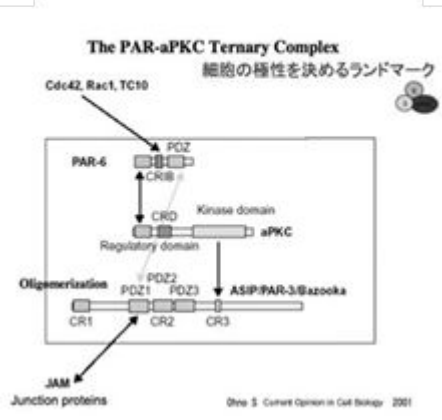
口腔がんは主に扁平上皮細胞に由来する。正常上皮細胞は高度に極性化された構造を持つ。口腔扁平上皮癌、特に治療制御が困難な進行症例や再発症例では扁平上皮癌細胞の形態異常つまり上皮細胞極性が異常となっている (図 2)。このように口腔扁平上皮癌の進展に上皮細胞極性の破綻が深く関わっている。

図 2. 細胞極性の異常と癌の発生



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 3)。近年、我々の研究グループを

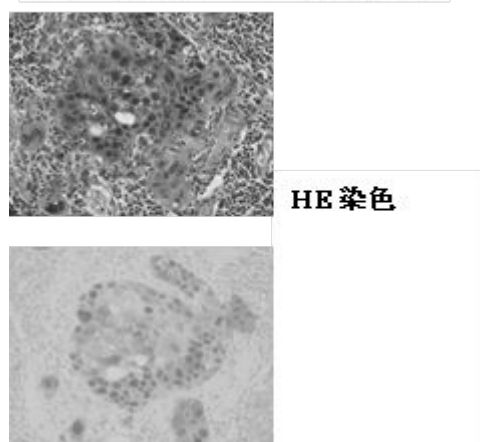
図 3. aPKC/Par システム



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.)。口腔扁平上皮癌 40 例を用いて予備検討を行ったところ、80% のサンプルで aPKC / の過剰発現とその細胞内局在異常を見出した (図 4)。興味深いことに、この異常は、一般的に増殖・転移が早く予後が悪いとされる低分化型口腔扁平上皮癌に多い傾向を示した。このことは aPKC / の過剰発現と細胞内局在の異常が、口腔扁平上皮癌の進行・転移に深く関わることを強く示唆する。今後症例数を増やして更に詳細な臨床解析を行う。同時に、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有無及びそのメカニズムを詳

細に分子レベルで明らかにする。

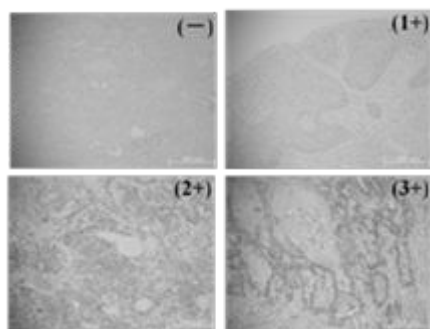
図 4. 口腔扁平上皮癌組織の染色



### 3. 研究の方法

平成 19 年から平成 22 年までに横浜市立大学附属病院口腔外科を受診した口腔扁平上皮癌患者のうち、化学療法や放射線療法を行っていない組織標本（生検標本、あるいは一切の術前療法をしていない症例の手術標本）を有する症例を対象とし、これらの症例について臨床病理学的因子（年齢、性別、TNM 分類、UICC 分類、病理組織分類、喫煙歴）を取りまとめる。次いで対象となった標本を切り出し、通常の HE 染色および抗 aPKC / 抗体を用いた aPKC / 免疫組織学的染色を行う。免疫組織化学染色の評価は病理診断医 2 名と臨床医 2 名で行い、半定量的に 4 段階に分類し、各サンプル内でもっとも比率の高い判定を採用する。正常扁平上皮組織においても aPKC / 免疫組織化学染色は 1+ 程度の反応を示す。そのため、判定において - および 1+ と判定したサンプルを Negative とし、2+ および 3+ と判定したサンプルを Positive とし取り扱う。

免疫組織化学染色の判定基準



取りまとめた臨床病理学的因子と免疫組織学的染色で得た結果を統計的に解析する。統計ソフトは市販の SPSS for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL) を用いて行い、統計解析は Pearson の 2 検定を行う。(n<5 のものに関しては Fisher の直接法を加味する。) 解析は、年齢 (<60 歳, ≥60 歳), 性別, 腫瘍サイズ (T1,2, T3,4), 頸部リンパ節転移の有無 (N0, N1-3), UICC 分類 (Stage I, II,

Stage III, IV), 病理組織 (分化度), 腫瘍の部位 (舌, 歯肉, その他), 化学療法の奏効度 (該当症例のみ), 喫煙歴について解析を行う。

### 4. 研究成果

本研究の対象となった口腔扁平上皮癌の臨床病理学的特徴を記す。患者年齢は 27 歳 ~ 84 歳 (平均 62.0 歳) であった。リンパ節転移は 41.1% で認められた。臨床ステージは Stage I が 12.5%, Stage II が 42.9%, Stage III が 14.3%, Stage IV が 39.3% であった。また、病理組織分化度は、高分化型が 41.1%, 中分化型が 33.9%, 低分化型が 25% であった。

aPKC / 免疫組織化学染色の結果、全 56 症例のうち aPKC / の発現を示したものは 82.1% であった。そのうちの 41.1% が過剰発現タイプであり、残りは正常部位と同じ程度の発現であった。17.9% で aPKC / の発現を認めなかった。

臨床病理学的因子と aPKC / 発現の相関関係を記す。病理組織分化度において、低分化型の口腔扁平上皮癌ほど aPKC / 過剰発現を認めた。また、60 歳未満の症例で有意に aPKC / の過剰発現を認めた。

一方で腫瘍サイズや頸部リンパ節転移の有無、UICC 分類では有意な相関関係は認めなかった。また、aPKC / の局在と臨床病理学的因子との間には統計的に有意な差は認めなかった。

### 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 1 件)

小泉敏之、光藤健司、小栗千里、岩井俊憲、光永幸代、飯坂友宏、來生知、廣田誠、近津大地、藤内祝、進行口腔癌に対する逆行性超選択的動注化学放射線療法 - 上顎歯肉扁平上皮癌 (T3,4) に対する治療効果の検討、頭頸部癌、査読有、39 (4)、2013、443-448、<http://dx.doi.org/10.5981/jjhnc.39.443>

[学会発表](計 2 件)

小泉敏之、口腔癌の頸部リンパ節転移に対するハイパーサーミアを併用した術前動注化学療法の治療効果、第 67 回日本口腔科学会総会、2013 年 5 月 23 日、宇都宮

小泉敏之、進行口腔癌に対する逆行性超選択的動注化学放射線療法 - 上顎歯肉癌」(T3,4) に対する治療効果の検討、第 36 回日本頭頸部癌学会、2012 年 6 月 7 日、松江

[図書](計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0件）

取得状況（計 0件）

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小泉 敏之 (KOIZUMI, Toshiyuki)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：8 0 3 2 3 5 7 5

### (2) 研究分担者

光藤 健司 (MITSUDOH, Kenji)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：7 0 3 0 3 6 4 1

來生 知 (KIOI, Mitomu)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：3 0 5 4 5 0 5 9

長嶋 洋治 (NAGASHIMA, Youji)

横浜市立大学・医学研究科・准教授

研究者番号：1 0 2 1 7 9 9 5

秋本 和憲 (AKIMOTO, Kazunori)

東京理科大学・薬学部・准教授

研究者番号：7 0 2 8 5 1 0 4