

## 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：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23792356

研究課題名(和文) サイトケラチンは口腔癌難治症例の新たな予後因子となりうるか？

研究課題名(英文) Would Cytokeratin be a new prognostic marker of oral squamous cell carcinoma?

研究代表者

豊嶋 健史 (Toyoshima, Takeshi)

九州大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：20546569

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、CKがOSCCの新規予後因子としての可能性を解明することを目的として、口腔扁平上皮癌(OSCC)患者から末梢血を経時的に採取し、血中のCK陽性癌細胞と分化度との関連を検索した。OSCC患者20名において、CK17は20/20例、CK19は15/20例、CK20は12/20例の発現率であった。経時的検索では、その相対比はCK17で1:0.73:0.87、CK19で1:1.14:1.36、CK20で1:1.7:1.80であった。また、術後1か月の時点での予後良好症例と不良症例の比較では、CK17は0.69と1.38、CK19は1.02と1.82、CK20は5.48と0.09であった。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to verify an correlation between CK positive cells and differentiation of oral squamous cell carcinoma (OSCC) in order to clarify if CK in tumor cell would be a new prognostic marker in patients with OSCC. In 20 patients, blood samples were taken pre/postoperatively and in follow-up periods for this study. The positive cases were 20/20 for CK17, 15/20 for CK19, and 12/20 for CK20. The chronological relative ratios were 1:0.73:0.87 for CK17, 1:1.14:1.36 for CK19, and 1:1.7:1.80 for CK20. Between rich and poor prognostic cases, the relative ratios of postoperative 1 month were 0.69 vs 1.38 for CK17, 1.02 vs 1.82 for CK19, and 5.48 vs 0.09 for CK20. These results indicate that CK17 might be a new prognostic marker of OSCC.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学 外科系歯学

キーワード：口腔扁平上皮癌 サイトケラチン 分化度

### 1. 研究開始当初の背景

外科的切除や放射線療法、化学療法を用いた三者併用療法の発展にも関わらず、口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma: OSCC) の予後は未だに悪い。口腔扁平上皮癌 (OSCC) は再発や遠隔転移をきたすが、その原因のひとつとして骨髄中や末梢血中へ浸潤する癌細胞 (Disseminated tumor cells: DTCs) の存在が考えられている。それゆえ OSCC 患者の体系的治療を行うためには、DTCs を早期発見する手法を確立することが急務である。

CK は正常上皮細胞と比較して癌細胞において過剰発現しており、健常者の骨髄中や末梢血中では CK 陽性癌細胞は検出されない。これまで、固形癌患者の原発巣や骨髄中、末梢血中の癌細胞における CK の過剰発現は、その予後に関与することが報告されている。特に、CK17 は子宮頸部や喉頭の扁平上皮癌において免疫組織学的に診断因子としての可能性が報告されている。さらに、OSCC 患者の原発巣における CK20 mRNA の発現過剰は頸部リンパ節転移に関与しているとの報告もある。

### 2. 研究の目的

本研究では、患者から得られた OSCC 組織や扁平上皮癌細胞株を用いて癌細胞の分化と CK の発現様式との関連を更に明らかにし、次に CK が OSCC の予後因子として有用であるかを臨床病理学的に解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### A. OSCC と白板症における CK の発現と臨床病理学的所見との関連

病理組織学的に OSCC と診断された 105 例の生検組織材料を用い、7 種類の抗 CK 抗体 (抗 CK13 抗体、抗 CK14 抗体、抗 CK16 抗体、抗 CK17 抗体、抗 CK18 抗体、抗 CK19 抗体、抗 CK20 抗体) を用いて免疫組織化学的染色を行った。また、臨床的に白板症と診断された 108 例の生検材料を用い、抗 CK17 抗体と抗 CK13 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。

#### B. OSCC における CK17 の発現と分化との関連

CK17 の発現と OSCC 細胞の分化との関連を検索するため、上皮幹細胞のマーカーであり、低分化 OSCC 細胞との関連が示唆される  $\Delta$ Np63 を用いて免疫組織化学的染色を行った。また、高分化型 OSCC 由来の HSC-2、低分化型 OSCC 由来の HSC-3 および SAS、OSCC 再発症例由来の SQUU-A、同じく再発症例で高転移能を有する SQUU-B といった 5 種類の細胞株における CK17 mRNA 発現量を real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) 法にて解析し、OSCC 細胞の分化の

違いによる CK17 mRNA の発現の差異を検索した。

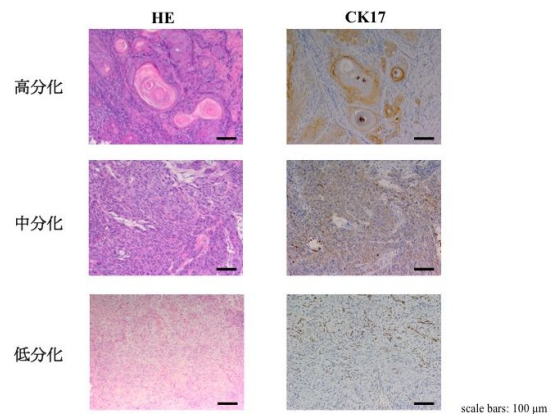
#### C. OSCC 患者の末梢血中における CK17 の発現と臨床所見との関連

OSCC 患者の末梢血を経時的 (術前、術中、術後、定期的な経過観察時) に採取し、CK17 の発現を検索した。

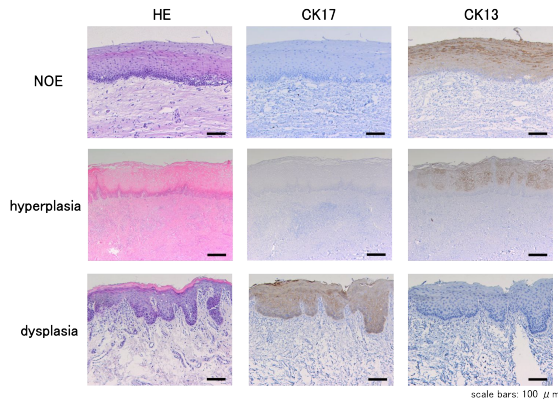
### 4. 研究成果

#### A. OSCC と白板症における CK の発現と臨床病理学的所見との関連

OSCC における 7 種類の CK の発現頻度は CK13 が 3/105 例 (2.9%)、CK14 が 102/105 例 (97.1%)、CK16 が 60/105 例 (57.1%)、CK17 が 101/105 例 (96.2%)、CK18 が 21/105 例 (20.0%)、CK19 が 39/105 例 (37.1%)、CK20 が 22/105 例 (21.0%) であった。NOE における発現頻度は、CK13 が 10/10 例 (100%)、CK14 が 10/10 例 (100%)、CK16 が 4/10 例 (40.0%)、CK17 が 0/10 例 (0%)、CK18 が 2/10 例 (20.0%)、CK19 が 4/10 例 (40.0%)、CK20 が 0/10 例 (0%) であった。CK17 のみ NOE において発現を認めず、OSCC において高発現していた ( $p < 0.01$ )。臨床病理学的所見と比較すると、低分化型よりも高分化型 OSCC において有意に CK17 の発現を認めた ( $p < 0.01$ )。

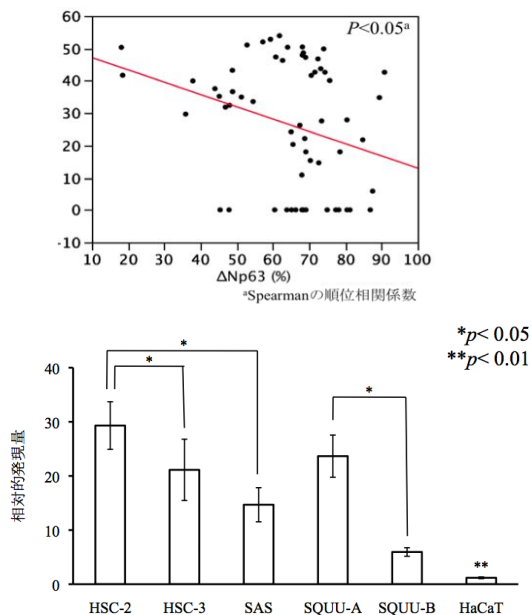


また、CK17 の発現頻度とその他の臨床病理学的所見との間に関連は認めなかった。白板症全体では 55/108 例 (50.9%) において CK17 の発現を認めた。上皮性過形成を伴う (hyperplasia) 症例では 36/74 例 (48.6%) において発現を認めたのに対し、上皮性異形成を伴う (dysplasia) 症例では 19/34 例 (55.9%) において有意に発現頻度が高かった ( $p < 0.01$ )。OSCC ではほとんど発現がみられなかった CK13 は、白板症全体では 63/108 例 (58.3%) において発現を認めた。hyperplasia 症例では 52/74 例 (70.3%) において発現を認めたのに対し、dysplasia 症例では 11/34 例 (32.4%) において有意に発現頻度が低かった ( $p < 0.01$ )。



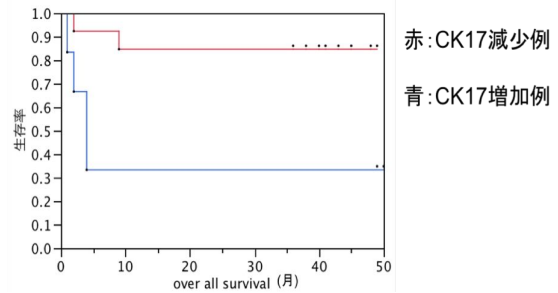
### B. OSCC における CK17 の発現と分化との関連

ΔNp63 の発現頻度は 102/105 例 (97.1%) であり、核に特異的に発現していた。ΔNp63 は上皮基底層や癌胞巣の最外層に発現し、癌胞巣の内側に発現する CK17 とは相対する発現を認めた。ΔNp63 の発現様式と OSCC の臨床病理学的所見との間に有意な発現はみられなかった。HSC-2 における CK17 mRNA 発現量は、HSC-3 および SAS と比較して有意に多かった ( $p < 0.01$ )。また、SQUU-B より SQUU-A において発現量が有意に多かった ( $p < 0.01$ )。以上から、CK17 は高分化な OSCC 細胞に発現することが示唆された。



### C. OSCC 患者の末梢血中における CK17 の発現と臨床所見との関連

OSCC 患者の末梢血中において CK17mRNA は高発現しており、術後に CK17 発現量が減少した症例は有意に予後が良好である事が示唆された。



### 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)

1. Ryoji Kitamura, Takeshi Toyoshima, Hideaki Tanaka, Shintaro Kawano, Takahiro Kiyosue, Ryota Matsubara, Yuichi Goto, Kazunari Oobu, Seiji Nakamura Association of cytokeratin 17 expression with differentiation in oral squamous cell carcinoma. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 2012 Aug;138(8):1299-310
2. Hideaki Tanaka, Takeshi Toyoshima, Kenzo Sonoda, Ryoji Kitamura, Masaaki Sasaguri, Shintaro Kawano, Ryota Matsubara, Yuichi Goto and Seiji Nakamura Apoptotic function of tumor-associated antigen RCAS1 in oral squamous cell carcinoma Journal of Translational Medicine 2014 Apr in print

〔雑誌論文〕(計 2 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：

種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊嶋 健史 (TOYOSHIMA TAKESHI)

九州大学・研究院・助教

研究者番号：20546569

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：