

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390466

研究課題名(和文) 口腔癌における膜型ムチン発現の臨床病理学的意義の解明と診断への応用

研究課題名(英文) Membranous mucin expression in oral squamous cell carcinoma and its clinical significance

研究代表者

杉原 一正 (Sugihara, Kazumasa)

鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：00117516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円、(間接経費) 4,440,000円

研究成果の概要(和文)：MUC1やMUC4は、細胞表面を保護する「粘液」の主成分である「膜型ムチン」に分類され、多くのヒト悪性腫瘍の予後不良因子として広く知られている。本研究の目的は、口腔扁平上皮癌におけるMUC1およびMUC4の予後予測マーカーとしての有用性を検討することである。口腔癌症例においてMUC1およびMUC4の発現は腫瘍の悪性度と有意に相関していた。全生存率および無病生存率はそれぞれ発現群では非発現群に比べ有意に低下していた。まとめると、MUC1やMUC4の発現を示すOSCC症例は嚴重な予後観察が必要であり、またこれらの発現は治療法の選択や予後の予測の際に有用であることが示された。

研究成果の概要(英文)：MUC1 and MUC4 mucins are high molecular weight glycoproteins and help to protect and lubricate luminal surfaces under normal physiological conditions. The objective of the current study was to evaluate the prognostic significance of MUC1 and MUC4 expression in patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC). Both MUC1 and MUC4 expression were found to be significantly correlated with tumor aggressiveness. In both mucins, the overall survival and disease-free survival rates were significantly worse for patients with expression compared with those without expression. In addition, these expressions were found to be an independent risk factor for subsequent regional lymph node metastasis. Taken together, these results suggest that patients with OSCC showing positive mucin expression should be followed up carefully, and that MUC1/MUC4 immunohistochemistry is a powerful indicator for tumor aggressiveness and can predict subsequent nodal metastasis and outcomes for patients with OSCC.

研究分野：外科系歯学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：口腔癌 膜型ムチン MUC1 MUC4 口腔扁平上皮癌 予後規定因子

1. 研究開始当初の背景

口腔癌は全世界において毎年275000人が罹患するといわれ、医療の発展にも関わらず口腔癌の生存率はこの30年で大きな改善はみられていない。口腔癌の90%以上は扁平上皮癌(Oral Squamous Cell Carcinoma、以下OSCC)である。一般的にOSCCは、その早期発育段階で隣接組織に浸潤し、25~50%がリンパ節転移を有すると考えられている。しかし、口腔癌の最も重要な予後不良因子とされているリンパ節転移は、しばしば診断や治療の段階で検出されないことが多い。また、外科的切除は患者の生存率を向上させる最も有効な方法の一つであるが、安全域を十分に得られた切除を行っても、予期しない再発や後発転移により患者が死亡転帰をたどることも少なくない。よって、患者予後をあらかじめ予測できる有用な指標の存在は、OSCCの治療法の選択や予後観察において非常に重要な意味合いを有する。

「ムチン」は、ヒトの「粘液」の主成分であり、種々の上皮から産生される。現在までに20種のムチンが同定され、その機能からMUC1やMUC4を含む「膜型ムチン」および「分泌型ムチン」に大別される。これまでムチンの機能としては、一般的に細胞保護や潤滑物質としての役割が考えられてきた。しかし近年、ムチンは細胞分化、細胞接着や細胞シグナル伝達にも密接に関わることが明らかにされた。さらに「膜型ムチン」は多くの悪性腫瘍に高発現し、極性のない過剰発現により細胞接着を阻害し、腫瘍の浸潤・転移に促進的に働く重要な予後不良因子として広く知られている。

これらの膜型ムチンのうち、MUC1およびMUC4は非常に大きな分子量を持つ糖タンパク

質で、膜型ムチンのなかでも詳細な解析がなされている。申請者らを含む研究グループは、MUC1やMUC4が膀胱癌、胃癌、肺癌など、ヒトの数々の腫瘍の浸潤・転移に促進的に働く重要な予後不良因子であることを報告してきた。しかし、OSCCにおけるその予後因子としての有用性は不明である。以上のことから、OSCCにおける膜型ムチン(MUC1およびMUC4)の発現を検索し、その予後因子としての有用性を検討する着想を得た。

2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔扁平上皮癌におけるMUC1およびMUC4の発現状況およびその臨床病理学的パラメータとの関連を評価し、予後予測マーカーとしての有用性を検討することである。また、両者を組み合わせることでより精度の高い予後予測モデルの構築を目指す。

3. 研究の方法

鹿児島大学医歯学総合研究科倫理委員会の倫理審査の認可後、病理組織学的に口腔扁平上皮癌と診断された症例を後ろ向きに検索した。MUC4では1992-2006年に鹿児島大学病院口腔外科を受診し初発口腔癌と診断された150例、MUC1では1992-2008年に受診した206名を対象とした。症例の臨床病理学的情報を収集するとともに、切除標本をホルマリン固定、パラフィン包埋後4 μ mに薄切し、MUC1およびMUC4の免疫組織化学染色を行った。次に染色結果と患者の予後を含む臨床病理学的パラメータとの関連を検討し、予後因子としての有用性を統計学的に分析した。症例の全生存率および無病生存率はカプラン・マイヤー法を用いて比較し、生存率の差はログランク検定を用いて評価した。全生存率および無病生存率の単変量および多変量解析はCox比例ハ

ザードモデルを用いて行った。また生存率分析に加えて、後発リンパ節転移に対するリスクの単変量および多変量解析をCox比例ハザードモデルを用いて行った。さらにMUC1の結果とMUC4の結果を組み合わせることで、より精度の高い予後予測が可能であるか検討した。すべての統計は両側性であり、 $P < 0.05$ を統計学的に有意とみなした。

4. 研究成果

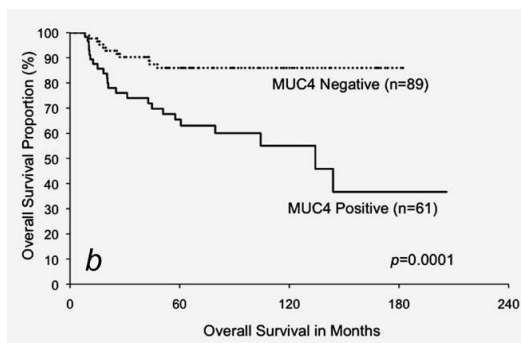
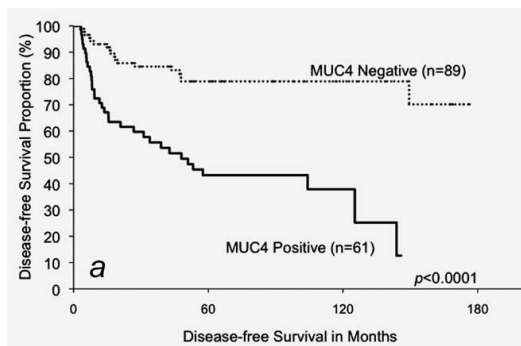
(1) MUC4

MUC4 発現群の無病生存率および全生存率は、MUC4 陰性群より有意に低下していた ($p < 0.0001$ 、 $p = 0.0001$ 、図)。腫瘍死に対する単変量解析では、MUC4 発現 ($P = 0.0002$)、腫瘍部位 ($P = 0.017$)、リンパ節転移 ($P = 0.012$)、腫瘍ステージ ($P = 0.026$)、びまん性浸潤増殖 ($P = 0.003$) が統計学的に有意な予後不良因子であった。腫瘍死に対する多変量解析では、MUC4 発現 ($P = 0.0015$) とびまん性浸潤増殖 (YK 分類4 型、 $P = 0.018$) がOSCC の有意な独立した予後不良因子であった。MUC4 陽性群は、治療後の局所再発 ($p = 0.017$) および後発リンパ節転移 ($p = 0.0001$) の発現と有意に相関していた。

本研究により、MUC4 発現は、OSCC 症例における独立した予後不良因子であることが初めて示された。MUC4の発現を示すOSCC症例は、嚴重な予後観察が必要である。またMUC4 発現は治療法の選択や予後の予測の際に有用であり、将来の分子標的治療のターゲットとしても有用であることが示唆された。

図 .MUC4発現と口腔癌の生存率

(上段：全生存率、下段：無病生存率)

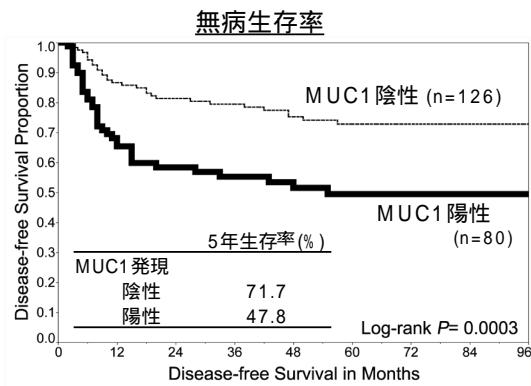


(2) MUC1

MUC1の発現は病理学的リンパ節転移 ($P = 0.002$)、臨床病期 ($P = 0.02$)、癌細胞のびまん性浸潤 ($P = 0.03$) および血管浸潤 ($P = 0.01$) などの腫瘍の悪性度と有意に相関していた。全生存率および無病生存率はそれぞれMUC1発現群では非発現群に比べ有意に低下していた ($P = 0.001$ および $P = 0.0003$ 、図)。多変量解析において、MUC1発現は全生存および無病生存の有意な独立したリスク因子であった (ともに $p = 0.04$)。またMUC1の発現は、後発所属リンパ節転移の独立した危険因子であった ($P = 0.03$)。

MUC1の異所性発現は、OSCC症例における予後不良を示唆する独立予後因子であった。MUC1発現はOSCC患者の後発リンパ節転移に対する危険因子であることから予防的頸部郭清術の適応決定に寄与しうると思われた。MUC4と同様に、MUC1発現陽性を示すOSCC症例は嚴重に予後観察されるべきであると思われる。

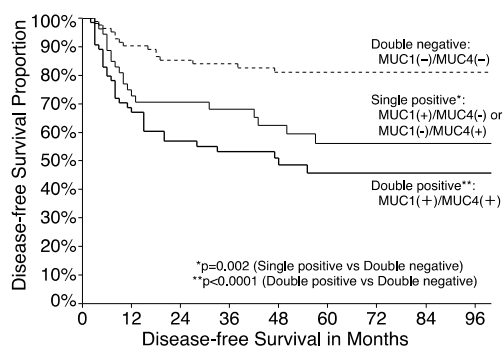
図 .MUC1発現と無病生存率



(3) MUC1とMUC4の組み合わせ

口腔癌におけるMUC1とMUC4の発現は有意に相関していた(p<0.0001)。MUC1とMUC4の共発現は腫瘍の大きさ(p=0.014)、リンパ節転移(0.0001)、ステージ(p=0.006)、びまん性浸潤(p=0.028)、血管浸潤(p=0.014)などの腫瘍の悪性度と強く相関していた。MUC1/MUC4共発現群は、単独発現群や非発現群に比べ有意に低い生存率を示した(図)。多変量解析ではMUC1/MUC4共発現は全生存、無病生存および後発リンパ節転移の独立危険因子であった(p=0.007, p=0.0019, p=0.0025)。

図 .MUC1/MUC4共発現と無病生存率



総合すると、MUC1/MUC4の組み合わせは、それぞれを単独で分析するよりも鋭敏にOSCC症例の予後を予測しうることが明らかになった。MUC1とMUC4はOSCCの治療方針を決定する際の今後の有用な指標になると思われる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

1) Kamikawa Y, Kanmura Y, Hamada T, Yamada N, Macha MA, Batra SK, Higashi M, Yonezawa S, Sugihara K. Combination of MUC1 and MUC4 expression predicts clinical outcome in patients with oral squamous cell carcinoma

Int J Clin Oncol in press 2014. (査読有)

2) 浜田倫史, 野村昌弘, 上川善昭, 杉原一正 口腔扁平上皮癌におけるMUC1ムチン上のDF3エピトープの発現は腫瘍悪性度、後発リンパ節転移および予後不良と関連する 日本口腔外科学会雑誌60巻4号、2014(査読有)

3) Hamada T, Nomura M, Kamikawa Y, Yamada N, Batra SK, Yonezawa S, Sugihara K: DF3 epitope expression on MUC1 mucin is associated with tumor aggressiveness, subsequent lymph node metastasis, and poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma.

Cancer 118: 5251-64, 2012. (査読有)

4) Hamada T, Wakamatsu T, Miyahara M, Nagata S, Nomura M, Kamikawa Y, Yamada N, Batra SK, Yonezawa S, Sugihara K: MUC4: a novel prognostic factor of oral squamous cell carcinoma.

Int J Cancer 130: 1768-76, 2012. (査読有)

[学会発表](計4件)

1) 浜田倫史 口腔癌の診断と治療戦略 基礎そして臨床から - 口腔癌の先端研究に

基づいた近未来的治療戦略について - 「口腔外科の立場から」 第 67 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会 シンポジウム 2
宇都宮市・2012

2) 野村昌弘、浜田倫史、向井洋、杉原一正

口腔扁平上皮癌における MUC1 発現は後発リンパ節転移および予後不良の予測因子となりえる 九州地区口腔癌研究会第 16 回学術講演会 2012.6.22 鹿児島市

3) 野村昌弘、浜田倫史、永田聡、上村祐二、藤崎航太、杉原一正 口腔扁平上皮癌にお

ける MUC1 発現と腫瘍悪性度、後発リンパ節転移および予後との関連性について
第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会

2012.1.26 さいたま市

4) 野村昌弘、浜田倫史、松井竜太郎、川島

清美、向井洋、杉原一正 当科における過去 15 年間の口腔扁平上皮癌の臨床病理学的検討 第 65 回 NPO 法人日本口腔科学会学術集会 2011.4.22 東京都

6 . 研究組織

(1)研究代表者

杉原 一正 (SUGIHARA KAZUMASA)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科
教授 研究者番号 : 00117516

(2)研究分担者

上川 善昭 (KAMIKAWA YOSHIAKI)
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院
助教 研究者番号 : 30332901

坂元 亮一 (SAKAMOTO RYOICHI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科
助教 研究者番号 : 60452950

浜田 倫史 (HAMADA TOMOFUMI)
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院
助教 研究者番号 : 00444894

上川 泰子 (KAMIKAWA YASUKO)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科
教務職員 研究者番号 : 70253903

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

楠元 孝宣 (KUSUMOTO TAKANOBU)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科

永田 聡 (NAGATA SATOSHI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科

上村 祐二 (KANMURA YUJI)
鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科