

Tumor lymphangiogenesis correlates with lymph node metastasis and clinicopathologic parameters in oral squamous cell carcinoma

(口腔扁平上皮癌における腫瘍性リンパ管新生はリンパ節転移と臨床病理学的因子に関連する)

鹿児島大学医学部歯学部附属病院
全身管理歯科治療部・助教
(指導教員 杉原一正 教授)

申請者氏名 宮原 麻由美

口腔扁平上皮癌 (OSCC) においてリンパ管を経由する最初の転移巣である所属リンパ節転移は、病期と治療法の決定にとって最も重要な予後決定因子である。OSCC における腫瘍性血管新生と血行性転移については多くの報告があるが、これまで血管内皮細胞とリンパ管内皮細胞を病理標本上で区別する事は困難であったため、腫瘍性リンパ管新生とリンパ行性転移に関する報告は少ない。

近年、血管内皮細胞と区別してリンパ管内皮細胞を特異的に同定できる抗体が開発され、腫瘍性リンパ管新生について詳細な検索が可能となった。そこで、今回、OSCC における腫瘍性リンパ管密度 (LVD)、腫瘍性微小血管密度 (MVD)、血管内皮細胞成長因子 C (VEGF-C) の腫瘍内発現とそのレセプター Flt-4 の発現脈管密度 (FDV)、および腫瘍の増殖活性を生検病理標本で計測し、それらの病理組織学的指標と所属リンパ節転移等の臨床病理学的因子や生存率との関連を検索し、治療開始時における病理組織学的検索による予後判定の可能性について検討した。

【材料と方法】

1992年1月から2001年12月までの10年間に鹿児島大学病院口腔外科で一次治療を行い、経過観察が可能であったOSCC110症例を対象とした。症例は男性75例、女性35例、平均年齢は64.7歳 (25~88歳) で、部位は舌46例、歯肉33例、口腔底14例、頬粘膜10例、その他7例であった。

ホルマリン固定後、パラフィン包埋された生検病理標本を用いて、HE染色による組織型の再評価と共に、リンパ管内皮細胞マーカーとしてD2-40抗体、血管内皮細胞マーカーとして抗CD105抗体、抗VEGF-C抗体、抗Flt-4抗体、および細胞増殖マーカーとしてKi-67抗体を用いた免疫組織学的検索を行った。D2-40抗体、抗CD105抗体、抗Flt-4抗体染色標本では、腫瘍周囲の単位面積当たりの陽性脈管数を計測し、それぞれの脈管密度LVD、MVD、およびFVDを算出した。また、抗VEGF-C抗体とKi-67抗体染色標本では、腫瘍細胞500個当たりの陽性細胞数を計測し、陽性細胞の割合を算出した。

各組織計測結果と臨床病理学的因子 (年齢、性別、T分類、組織学的分化度、所属リンパ節転移の有無、腫瘍浸潤様式) の関連性について χ^2 検定およびFisher検定により統計学的分析を行い、 $p < 0.05$ を有意とした。また、LVD値とMVD値の各中央値により、それぞれLow群とHigh群に分け、Kaplan-Meier法による生存曲線を用いて、各群間の生存率の差異を統計学的に解析した。

【結果】

1. LVDはT分類、所属リンパ節転移、腫瘍浸潤様式と有意な関連 ($p<0.001$) が認められた。
2. MVDは所属リンパ節転移、腫瘍浸潤様式と有意な関連 ($p<0.001$) が認められた。
3. FVDは浸潤様式と所属リンパ節転移に有意な関連 ($p<0.001$, $p=0.012$) が認められた。
4. LVD、MVD、FVDは舌で他部位より有意に高値を示した ($p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.011$)。
5. VEGF-Cの腫瘍での発現はT分類と有意な関連 ($p=0.029$) を認めたが、LVD、MVD、FVD、およびKi-67と有意な関連は認められなかった。
6. LVDとMVDのHigh群は予後不良であり、それぞれLow群との間に有意な生存率の差異が認められた ($p<0.001$, $p=0.0028$)。

【結論】

OSCC 生検病理標本における D2-40 抗体による腫瘍性リンパ管密度 LVD は所属リンパ節転移や生存率と最も関連し、MVD や VEGF-C より有用な指標であることが示唆された。今後、D2-40 抗体による腫瘍性リンパ管密度 (LVD) を、病期や治療方針決定の指標として活用するとともに、所属リンパ節転移に果たす役割を解明することにより、OSCC に対する新たな治療戦略の構築が可能になると考えられた。

(Cancer 掲載予定)

報 告 番 号	歯 論 第 67 号		氏 名 宮 原 麻 由 美	
論文審査担当者	主 査	杉原 一正		
	副 査	植村 正憲	梶山 加綱	佐藤 強志

Tumor lymphangiogenesis correlates with lymph node metastasis and clinicopathologic parameters in oral squamous cell carcinoma (口腔扁平上皮癌における腫瘍性リンパ管新生はリンパ節転移と臨床病理学的因子に関連する)

本研究では、口腔扁平上皮癌 (OSCC) における腫瘍性リンパ管密度 (LVD) を特異的なリンパ管内皮細胞マーカーである D2-40 抗体を用いて検索するとともに腫瘍性微小血管密度 (MVD) を血管内皮細胞のマーカーである CD-105 抗体を用いて検索した。併せて血管内皮細胞成長因子 C (VEGF-C) の腫瘍内発現とそのレセプター Flt-4 の発現脈管密度 (FVD) および Ki-67 を用いて腫瘍の増殖活性を生検病理標本で計測し、これらの病理組織学的指標と所属リンパ節転移等の臨床病理学的因子や生存率との関連を検索した。

1992 年 1 月から 2001 年 12 月までの 10 年間に鹿児島大学病院口腔外科で一次治療を行い、経過観察が可能であった OSCC 110 症例を検索対象とした。症例は男性 75 例、女性 35 例、平均年齢は 64.7 歳、発生部位は舌 46 例、歯肉 33 例、口底 14 例、頬粘膜 10 例、その他 7 例であった。ホルマリン固定後、パラフィン包埋された生検病理標本を用いて、HE 染色とともに D2-40、CD105、VEGF-C、Flt-4、Ki-67 の抗体を用いた免疫組織学的検索を行った。D2-40、CD-105、Flt-4 については、腫瘍周囲の単位面積あたりの陽性脈管数を計測し、それぞれの脈管密度 LVD、MVD、FVD を算出した。VEGF-C と Ki-67 については、腫瘍細胞 500 個当たりの陽性細胞数を計測し、陽性細胞の割合を算出した。

得られた各組織計測結果と臨床病理学的因子 (年齢、性別、T 分類、組織学的分化度、所属リンパ節転移の有無、腫瘍浸潤様式) の関連性について χ^2 検定および Fisher 検定により統計学的分析を行い、 $p < 0.05$ を有意とした。また、LVD と MVD を各中央値により、それぞれ Low 群と High 群に分け、Kaplan-Meier 法による生存曲線を用いて、各群の生存率の差異を統計学的に解析した。

その結果、LVD は T 分類、所属リンパ節転移、腫瘍浸潤様式と有意な関連が認められ、MVD と FVD は 所属リンパ節転移と腫瘍浸潤様式に有意な関連が認められた。また、LVD、MVD、FVD は舌で他部位より有意に高値を示した。VEGF-C の腫瘍での発現は T 分類と有意な関連を認めたが、LVD、MVD、FVD および Ki-67 とは有意な関連は認められなかった。LVD と MVD の High 群は予後不良であり、それぞれ Low 群との間に有意な生存率の差異が認められた。

以上のことから、本研究は OSCC の生検病理標本における D2-40 抗体による腫瘍性リンパ管密度 (LVD) は所属リンパ節転移や生存率と最も相関し、MVD や VEGF-C より有用な臨床的指標となることを明らかにしている。今後、D2-40 抗体による腫瘍性リンパ管密度 (LVD) を OSCC の病期や所属リンパ節転移の予測、治療方針の決定の指標として活用することにより、OSCC に対する新しい治療戦略の構築が可能となると思われる。

よって、本審査委員会は、本論文が学位論文として十分に価値あるものと判断した。

試験（学力確認）の結果の要旨および担当者

様式 16

様式 10

報 告 番 号	歯 論 第 67 号		氏 名 宮 原 麻 由 美	
論文審査担当者	主 査	杉原 一正		
	副 査	植村 正憲	梶山 加綱	佐藤 強志

審査委員会は、平成 19 年 7 月 17 日（火）に、上記学位申請者に面接して、学位論文の内容について説明を求めると共に、これと関連する口腔癌の臨床病理学的特徴、免疫組織化学の基礎的事項などについても試問を行った結果、いずれも満足すべき回答が得られた。

なお、第一外国語試験（英語）については、平成 16 年 8 月 24 日（火）に実施された学位取得のための第一外国語試験に合格していることが確認された（登録番号第 34 号）。また、第二外国語試験（独語）についても独文和訳の結果から、大学院博士課程修了者と同等の学力があると判断された。

以上のことから、申請者は大学院歯学研究科博士課程修了者と同等の学力と識見を有するものと認め、博士（歯学）の学位を与えるに十分な資格をもつものと判断した。