

論 文 要 旨

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

〔 口腔扁平上皮癌において DF3 をエピトープとする MUC1 発現は 組織悪性度、後発リンパ節転移および予後不良と関連する 〕

野村 昌弘

【序論および目的】

MUC1 は、細胞表面を保護する粘液の主成分である「膜型ムチン」に分類される。しかし近年、この「膜型ムチン」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、多くのヒト悪性腫瘍に過剰発現し、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。しかしながら、口腔扁平上皮癌(Oral squamous cell carcinoma、以下 OSCC)における MUC1 発現と患者予後との関連性についての報告はいまだない。本研究の目的は OSCC 症例の組織を用いて MUC1 ムチン発現を検索し、臨床病理学的事項との関連性を検討することで、MUC1 ムチンの発現が OSCC の予後予測因子になりうるかを解明することである。

【材料および方法】

1992 年から 2008 年までの 17 年間に鹿児島大学病院口腔外科にて一次治療を行った 206 例の OSCC 症例の生検または切除組織を用いて DF3 をエピトープとする MUC1 の免疫組織化学的染色を行い、MUC1 の発現状況を検索した。症例の生存率を含め年齢、性別、腫瘍の発生部位、T 分類、リンパ節転移の有無、Stage 分類、分化度、浸潤様式、血管侵襲、リンパ管侵襲、神経侵襲などの臨床病理学的事項と MUC1 発現との関連性を検討し、MUC1 発現の予後因子としての有用性を検討した。

【結 果】

- ① MUC1 は正常口腔粘膜上皮には発現せず OSCC 206 例のうち 80 例(39%)に発現していた。
- ② MUC1 発現はリンパ節転移($p=0.002$)、stage の進行($p=0.02$)、浸潤様式($p=0.03$)、血管侵襲($p=0.01$)と関連性があった。
- ③ MUC1 発現群は非発現群に比べて全生存率($p=0.001$)および無病生存率($p=0.0003$)が有意に低下していた。
- ④ MUC1 発現は OSCC において独立した予後因子であることが多変量解析で示された($p=0.04$)。
- ⑤ MUC1 発現は後発リンパ節転移の独立した危険因子であることが多変量解析で示された($p=0.03$)。

【結論及び考察】

本研究により、MUC1の発現はOSCC症例における新規の独立した予後因子であることが示された。また、MUC1の発現はOSCCにおける後発リンパ節転移の予測因子であり選択的頸部郭清術の適応決定の一助になりえ、MUC1発現の陽性患者は注意深い経過観察が必要であると思われた。本研究によりMUC1の発現は、OSCCの治療法の選択や予後の予測の際に有用なマーカーとなりうることが示唆された。

(Cancer 掲載予定)

論文審査の要旨

報告番号	総研第 195 号	学位申請者	野村 昌弘
審査委員	主査	中村 典史	学位 博士 (医学・ <u>歯学</u> ・学術)
	副査	島田 和幸	副査 於保 孝彦
	副査	佐藤 強志	副査 向井 洋

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

(口腔扁平上皮癌において DF3 をエピトープとする MUC1 発現は組織悪性度、後発リンパ節転移および予後不良と関連する)

MUC1 は、細胞表面を保護する粘液の主成分である「膜型ムチン」に分類される。近年、この「膜型ムチン」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、多くのヒト悪性腫瘍に過剰発現し、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。しかしながら、口腔扁平上皮癌 (Oral squamous cell carcinoma、以下 OSCC) における DF3/MUC1 発現と患者予後との関連性についての報告は未だない。そこで、学位申請者らは、OSCC 症例の癌組織を用いて DF3/MUC1 ムチン発現を検索し、臨床病理学的事項との関連性を検討することで、DF3/MUC1 ムチンの発現が OSCC の予後予測因子になりうるかを解明することを目指した。

206 例の OSCC 症例の生検または切除組織を用いて DF3 をエピトープとする MUC1 の免疫染色を行い、DF3/MUC1 の発現状況を検索した。予後因子としての有用性を臨床病理学的因子との関連性について検討した。

その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

- 1) DF3/MUC1 は OSCC 206 例のうち 80 例 (39%) に発現していた。
- 2) DF3/MUC1 発現はリンパ節転移 ($p=0.002$)、stage の進行 ($p=0.02$)、浸潤様式 ($p=0.03$)、血管侵襲 ($p=0.01$) と関連性が認められた。
- 3) DF3/MUC1 発現は OSCC において独立した予後因子であることが多変量解析で示された ($p=0.028$)。
- 4) DF3/MUC1 発現は後発リンパ節転移の独立した危険因子であることが多変量解析で示された ($p=0.03$)。
- 5) DF3/MUC1 発現群は非発現群に比べて全生存率 ($p=0.001$) および無病生存率 ($p=0.0003$) が有意に低下していた。

本研究は、OSCC における DF3/MUC1 の発現と臨床病理学的因子の関連を検討したものであり、その結果 DF3/MUC1 の発現は、独立した予後因子であることが示され、また DF3/MUC1 発現は OSCC における後発リンパ節転移の予後因子であり、DF3/MUC1 発現の陽性患者は注意深い経過観察が必要であることを示した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 195 号	学位申請者	野村 昌弘。
審査委員	主査	中村 典史	学位 博士 (医学・ <u>歯学</u> ・学術)
	副査	島田 和幸	副査 於保 孝彦
	副査	佐藤 強志	副査 向井 洋

主査および副査の 5 名は、平成 24 年 6 月 6 日、学位申請者 野村 昌弘 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問 1) 日本人での口腔癌の 90%以上で出現するのは扁平上皮癌であると述べていたが、人種に差があるのか。

(回答) 人種による扁平上皮癌に対する出現についての差はない。

質問 2) 今回使用した材料はホルマリン固定前のものか。

(回答) 本研究で用いた材料はホルマリン固定を行い、パラフィン包埋したものを使用した。

質問 3) 選択的頸部郭清術とは具体的にはどういうことか。

(回答) 頸部リンパ節レベルの 1 つあるいはそれ以上を選択的に廓清する術式を選択的頸部郭清術といい、口腔癌では、レベル I ~ III についての廓清を行うことが多い。

質問 4) MUC1 ムチンの分子量はどれくらいか。

(回答) 数 10kDa ~ 数 100kDa と幅がある。

質問 5) MUC1 の糖鎖のつき方で病原性に差はでるのか。

(回答) 過去の報告によると腫瘍の生物学的性格に変化が生じる。

質問 6) MUC1 以外で悪性腫瘍に関連するムチンはあるのか。

(回答) 口腔扁平上皮癌において MUC4 ムチンが予後不良因子である。

質問 7) カットオフ値の設定はどのように決定したのか。

(回答) ROC 曲線を作成してカットオフ値を決定した。

質問 8) DF3/MUC1 発現割合を 50%のカットオフ値とした場合、臨床病理学的事項との相関は無かったとしているが、このことはどのように考えるか。

(回答) 正常口腔粘膜上皮には DF3/MUC1 は発現しないので、少しでも発現していると予後に影響するものと考えている。

質問 9) 多変量解析に用いた因子はどのように決定したのか。

(回答) 単変量解析において統計学的に P 値が 0.1 以下の因子とした。

最終試験の結果の要旨

質問 10) DF3/MUC1 に対する蛍光抗体は具体的にはどのように利用していくのか。

(回答) DF3/MUC1 タンパクに対する蛍光抗体を作製し癌細胞を標識することによって切除範囲の決定などに使用することを考えている。

質問 11) DF3/MUC1 抗体が認識する具体的な場所はどこになるのか。

(回答) コアタンパク部の特定の場所と考えられる。

質問 12) 膜型ムチンである DF3/MUC1 は細胞膜に発現するはずだが、細胞質内にも DF3/MUC1 が発現しているのはどうしてか。

(回答) MUC1 タンパクは細胞質内で作られるため、細胞膜に輸送される前のものが発現していると考えている。

質問 13) 貴分野で以前 MUC4 の研究報告をしていたが、MUC1 と MUC4 を組み合わせた研究はしているか。

(回答) 現在、研究中である。

質問 14) 正常な口腔粘膜上皮細胞で DF3/MUC1 が検出されないのは DF3 領域が糖鎖でマスクされているからか。

(回答) そのように考えている。

質問 15) 1992 年～2008 年までの口腔外科で治療された症例の何%が今回の対象となったのか。

(回答) 同時期の生検または切除標本のパラフィン包埋ブロックが残存している症例を対象としている。

質問 16) 206 例の症例を対象としているが予後調査はどの時点で行ったか。

(回答) 論文作成前にカルテの記載や電話、はがき等で調査を行った。

質問 17) 今回の研究では DF3/MUC1 の免疫染色において染色濃度の評価は行っていないのか。

(回答) 今回は行っていない。

質問 18) 症例全体の 5 年生存率はどれくらいか。

(回答) 79.4%である。

質問 19) DF3/MUC1 発現と脈管侵襲との相関があるとされているが、実際の免疫染色では DF3/MUC1 発現細胞が脈管侵襲している所見はあったか。

(回答) DF3/MUC1 発現陽性症例では脈管侵襲の頻度は高かったが、実際に DF3/MUC1 発現している細胞が脈管侵襲している所見はなかった。

質問 20) 転移症例での転移巣癌細胞の DF3/MUC1 の免疫染色はしているか。

(回答) 今回は行っていないが、今後、検索したい。

質問 21) MUC1 が分解される場合はどのように行われるのか。

(回答) ユビキチン化等、一般的なタンパク質と同様に行われる。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(歯学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。