



Relationship of Mitochondrial-Related Protein Expression with the Differentiation, Metastasis, and Poor Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma

村上, 明希

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2024-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8757号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100489982>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

Relationship of mitochondrial-related protein expression with the
differentiation, metastasis, and poor prognosis of oral squamous cell carcinoma

口腔扁平上皮癌におけるミトコンドリア関連タンパク質発現と分化、
転移、予後との関係

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

口腔外科学

(指導教員：明石 昌也教授)

村上 明希

【緒言】

口腔扁平上皮癌（OSCC）は頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）の約 40%を占めており、化学療法や放射線療法などの全身療法や手術の進歩にもかかわらず、口腔扁平上皮癌（OSCC）患者の 5 年生存率は過去 40 年間改善されておらず、予後を大きく改善する有効な治療方法は確立されていない。

ミトコンドリアの機能は多岐にわたり、エネルギー産生の他にもアポトーシスの誘導、活性酸素種（ROS）の発生、ミトコンドリアの分裂等が挙げられる。ミトコンドリアの異常は、がんの発生と進行に関連している。ミトコンドリア関連因子は多数報告されており、われわれの以前の研究では、正常組織と口腔扁平上皮癌（OSCC）組織における mtDNA コピー数と PGC-1 α および TFAM の発現を調べ、口腔扁平上皮癌（OSCC）組織では PGC-1 α -TFAM ミトコンドリア経路が阻害されている可能性があることを示した。また、SIRT3 や MTUS1、OGG1 といった同じくミトコンドリアに関連するタンパク質とがんとの関連も報告されている。

これらのミトコンドリア関連因子と口腔扁平上皮癌（OSCC）患者の予後との関係を多数の患者を対象とした研究は多くない。ミトコンドリア関連と OSCC の予後に関係があるのであれば、口腔扁平上皮癌（OSCC）の予後のバイオマーカーになりうると仮定した。

本研究の目的は、口腔扁平上皮癌（OSCC）患者におけるミトコンドリア関連タンパク質の発現を後ろ向きに調査し、予後と比較、検討することである。

【対象患者と方法】

対象は、神戸大学医学部附属病院歯科口腔外科で 2013 年 8 月から 2018 年 10 月の間に根治的手術が施行された口腔扁平上皮癌（OSCC）患者 197 例とし、後ろ向き観察研究を行った。年齢や性別、飲酒や喫煙習慣の有無、原発部位、臨床 T 期や臨床 N 期、分化度や脈管侵襲や神経侵襲、リンパ管侵襲、頸部リンパ節転移の有無、治療成績等について疫学的及び病理学的データを診療記録より調査した。ミトコンドリア関連因子（PGC-1 α 、TFAM、MTUS1、SIRT3）、DNA 修復タンパク質（OGG1）の発現を免疫組織化学染色で検討、比較した。

免疫組織化学的染色法は、4 μ m パラフィン切片を用いて、pH9 Tris / EDTA 溶液等による処理後、4℃ overnight で一次抗体反応を行った。翌日、室温 2 時間にて二次抗体反応を行い、DAB 処理後にスライドを作成した。染色部位は、Hybrid cell count BZ-H3C ソフトウェア（Keyence）を用いて定量化した。

統計分析方法は、予後予測における各因子の cutoff 値は ROC 曲線を用いて決定し、発現陽性群と陰性群に分け、予後との関連性は Kaplan-Meier 法および Log-rank 検定を用いて比較した。

【結果】

臨床 T 期、臨床 N 期、脈管侵襲、神経侵襲、リンパ管侵襲、頸部リンパ節転移様相と 5 因子のタンパク質レベルでの発現は有意に予後と関連していた。発現陽性群では陰性群と比較して 3 年疾患特異的生存率や頸部制御率、遠隔転移制御率が増加した。多変量解析では、PGC-1 α の発現低下（ハザード比：4.684）と脈管侵襲（ハザード比：5.690）が疾患特異的生存率の予測因子で

あった ($p < 0.001$)。

【考察】

本研究では、臨床 T 期と 5 因子のタンパク質レベルの間に有意な関連が認められ、T3 期や T4 期といった進行期に分類される患者では発現の低下が認められた。MTUS1 では分化度において低分化度腫瘍においてその発現の低下を認めた。これは過去の報告とも一致しており、OGG1 においては肺癌や乳癌、膀胱癌や肝細胞癌で発現低下を認めた場合の予後不良の因子である可能性が示唆されている。頭頸部癌でも OGG1 活性が低い場合の病期進行が速いことも報告されており、リスク因子として関連があることを示している。今回の結果からも OGG1 の低発現が口腔扁平上皮癌 (OSCC) 患者の予後と関連している可能性が示唆された。

また、5 因子のタンパク質レベルの発現と臨床 N 期と多発性頸部転移は有意に関連しており、PGC-1 α と TFAM、OGG1 の発現低下はリンパ管浸潤と節外浸潤 (ENE) と有意に関連していた。PGC-1 α と TFAM の発現は乳癌や肝癌等といった腫瘍の転移促進に関係しているという報告や、頭頸部癌では TFAM の発現低下と病期進行が負の相関を示すという報告がある。我々の結果では、PGC-1 α 、TFAM、OGG1、MTUS1、SIRT3 の発現と口腔扁平上皮癌 (OSCC) 患者の 3 年頸部制御率との間に有意な関連があることを示しており、これはミトコンドリア腫瘍抑制タンパク質及び DNA 修復タンパク質が口腔扁平上皮癌 (OSCC) における頸部リンパ節転移に関連していることを示唆する。しかし、進行癌では他因子とも密接に関連しており、交絡している可能性がある。

本研究では TFAM を除く 4 つのタンパク質の発現陽性群の 3 年局所制御率は発現陰性群と比較して有意に高く、5 つのタンパク質すべてにおいて発現陽性群の 3 年遠隔制御率および疾患特異的生存率は発現陰性群に対して有意に高かった。さらに多変量解析の結果、PGC-1 α の発現と脈管侵襲が 3 年疾患特異的生存率の最も重要な予測因子となり、PGC-1 α の低発現は口腔扁平上皮癌 (OSCC) の予後不良と関連することが示された。これにより、PGC-1 α は口腔扁平上皮癌 (OSCC) のバイオマーカーとなりうることが考えられ、スクリーニングと診断のための新しいアプローチの開発に役立つ可能性がある。今後の研究では生検時のサンプル等で PGC-1 α が検出できるかどうか調べる必要がある。

しかし本研究は後ろ向き研究であり、交絡因子の影響を最小限にするために多変量解析を行ったものの、バイアスを完全に排除することは困難である。また、各タンパク質の発現と口腔扁平上皮癌 (OSCC) の予後不良のメカニズムについては明らかにできなかった。今後これについて解明し、予後の予測因子について評価するためにはさらなる研究が必要である。

【結論】

口腔扁平上皮癌 (OSCC) 患者におけるミトコンドリア関連因子 (PGC-1 α 、TFAM、MTUS1、SIRT3)、DNA 修復タンパク質 (OGG1) の発現を調べ、患者の転帰との関連を調査した。発現陰性と比較して発現陽性であった患者の 3 年疾患特異的生存率や頸部制御率、遠隔転移制御率は増加していた。PGC-1 α の発現低下と脈管侵襲は、口腔扁平上皮癌 (OSCC) 患者の予後を予測する有効な因子となり得る。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 3329 号	氏 名	村上 明希
論文題目 Title of Dissertation	<p>口腔扁平上皮癌におけるミトコンドリア関連タンパク質発現と 分化、転移、予後との関係</p> <p>Relationship of Mitochondrial-Related Protein Expression with the Differentiation, Metastasis, and Poor Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 掛 地 吾 弘 Chief Examiner</p> <p>副 査 伊 藤 木 良 平 Vice-examiner</p> <p>副 査 篠 山 隆 司 Vice-examiner</p>		

(要旨は1, 000字～2, 000字程度)

【緒言】

口腔扁平上皮癌（OSCC）は頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）の約 40%を占めており、化学療法や放射線療法などの全身療法や手術の進歩にもかかわらず、口腔扁平上皮癌（OSCC）患者の 5 年生存率は過去 40 年間改善されておらず、予後を大きく改善する有効な治療方法は確立されていない。

ミトコンドリアの機能は多岐にわたり、エネルギー産生の他にもアポトーシスの誘導、活性酸素種（ROS）の発生、ミトコンドリアの分裂等が挙げられる。ミトコンドリアの異常は、がんの発生と進行に関連している。これらのミトコンドリア関連因子と OSCC 患者の予後との関係を多数の患者を対象とした研究は多くない。本研究の目的は、OSCC 患者におけるミトコンドリア関連タンパク質の発現を後ろ向きに調査し、予後と比較、検討することである。

【対象患者と方法】

対象は、神戸大学医学部附属病院歯科口腔外科で 2013 年から 2018 年の間に根治的手術が施行された OSCC 患者 197 例とし、後ろ向き観察研究を行った。年齢や性別、飲酒や喫煙習慣の有無、原発部位、臨床 T 期や臨床 N 期、分化度や脈管侵襲や神経侵襲、リンパ管侵襲、頸部リンパ節転移の有無、治療成績等について疫学的及び病理学的データを診療記録より調査した。ミトコンドリア関連因子（PGC-1 α 、TFAM、MTUS1、SIRT3）、DNA 修復タンパク質（OGG1）の発現を免疫組織化学染色で検討、比較した。染色部位は、Hybrid cell count BZ-H3C ソフトウェア（Keyence）を用いて定量化した。統計分析方法は、予後予測における各因子の cutoff 値は ROC 曲線を用いて決定し、発現陽性群と陰性群に分け、予後との関連性は Kaplan-Meier 法および Log-rank 検定、および多変量解析（Cox 比例ハザードモデル）を用いて比較した。

【結果】

臨床 T 期、臨床 N 期、脈管侵襲、神経侵襲、リンパ管侵襲、頸部リンパ節転移様相と 5 因子のタンパク質レベルでの発現は有意に予後と関連していた。発現陽性群では陰性群と比較して 3 年疾患特異的生存率や頸部制御率、遠隔転移制御率が増加した。多変量解析では、PGC-1 α の発現低下（ハザード比：4.684）と脈管侵襲（ハザード比：5.690）が疾患特異的生存率の予測因子であった（ $p < 0.001$ ）。

【考察】

本研究では、臨床 T 期と 5 因子のタンパク質レベルの間に有意な関連が認められ、T3 期や T4 期といった進行期に分類される患者では発現の低下が認められた。MTUS1 では分化度において低分化度腫瘍においてその発現の低下を認めた。今回の結果からも OGG1 の低発現が口腔扁平上皮癌（OSCC）患者の予後と関連している可能性が示唆された。

また、5 因子のタンパク質レベルの発現と臨床 N 期と多発性頸部転移は有意に関連しており、PGC-1 α と TFAM、OGG1 の発現低下はリンパ管浸潤と節外浸潤（ENE）と有意に関連していた。ミトコンドリア腫瘍抑制タンパク質及び DNA 修復タンパク質が口腔扁平上皮癌（OSCC）における頸部リンパ節転移と関連していることを示唆する。

本研究では、PGC-1 α は口腔扁平上皮癌（OSCC）のバイオマーカーとなりうるものが考えられ、スクリーニングと診断のための新しいアプローチの開発に役立つ可能性がある。今後の課題として、予後予測因子の評価のため、前向きに生検組織等で因子の発現を調査し、予後との関係を調べる必要がある。

【結論】

口腔扁平上皮癌（OSCC）患者におけるミトコンドリア関連因子（PGC-1 α 、TFAM、MTUS1、SIRT3）、DNA 修復タンパク質（OGG1）の発現を調べ、患者の転帰との関連を調査した。発現陰性と比較して発現陽性であった患者の 3 年疾患特異的生存率や頸部制御率、遠隔転移制御率は増加していた。

PGC-1 α の発現低下と脈管侵襲は、口腔扁平上皮癌（OSCC）患者の予後を予測する有効な因子となり得る。

本研究は、口腔扁平上皮癌患者におけるミトコンドリア関連因子、DNA 修復タンパク質の発現を調べ、患者の転帰との関連を明らかにした。PGC-1 α の発現低下と脈管侵襲は、口腔扁平上皮癌患者の予後を予測する有効な因子となり得るという重要な知見を得ている。

よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。