



The Evaluation of both Metastasis and Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma by S100A4 and E-cadherin Immunostaining

張, 剣明

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2004-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2941

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002941>

※ 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。



【 9 2 】

氏 名・(本 籍) 張 劍 明 (中国)

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学 位 記 番 号 博い第1552号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成16年3月31日

【 学位論文題目 】

The Evaluation of both Metastasis and Prognosis of
Oral Squamous Cell Carcinoma by S100A4 and
E-cadherin Immunostaining
(口腔扁平上皮癌における S100A4 とE-cadherin
発現の臨床的意義)

審 査 委 員

主 査 教 授 古 森 孝 英
教 授 横 崎 宏
教 授 丹 生 健 一

背景 と 目的

予後不良の扁平上皮癌は口腔領域に多い悪性腫瘍であり、癌の浸潤、転移に関連する分子についての研究は口腔扁平上皮癌患者の予後判定に極めて重要である。

S100A4 は、カルシウムを結合する S100 蛋白質ファミリーの一種であり、癌の転移と関連する分子であると報告されている。In vitro と臨床の研究では、S100A4 の発現増強は種々の癌のリンパ節転移と予後不良に密接な関連性があると報告されている。しかし、口腔扁平上皮癌における S100A4 発現と浸潤、転移、予後との関係についてはこれまで検討されていない。一方、E-cadherin の発現低下は口腔扁平上皮癌と他の腫瘍のリンパ節転移と予後不良に密接な関連性があり、S100A4 の発現レベルと逆の関係があると報告されている。さらに、臨床病理学のパラメータ、例えば腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンも口腔扁平上皮癌の予後因子として考えられている。

本研究では、S100A4 の免疫染色の結果と臨床病理学のパラメータの関係、および S100A4 と E-cadherin の関係について検討した。

材料 と 方法

1991 年 9 月から 1997 年 7 月まで神戸大学医学部付属病院の口腔外科と耳鼻科で手術治療を受けた口腔扁平上皮癌 43 例の手術標本から、4 μm の切片を作製して、1:100 に希釈した抗 S100A4 抗体と 1:400 に希釈した抗 Human E-cadherin 抗体を用いて SAB 法で免疫染色を行った。

(使用抗体: S100A4 抗体はわれわれの製造した抗体、皮下に組換え型の S100A4 蛋白質で免疫にされたラビットの血清より得られた抗 S100A4 ポリクロール抗体、E-cadherin 抗体は市販の TAKARA 酒造会社作製の HEC-1 抗体)

S100A4 の染色程度は陽性腫瘍細胞の比率によって、強陽性から陰性まで 4 段階

に分けた。E-cadherin の染色は正常上皮と比較した表現低下の程度によって、強陽性から陰性まで 4 段階に分けた。

カイ 2 乗検定では S100A4 と E-cadherin の染色結果と腫瘍の臨床病理学的パラメータの関係及び S100A4 と E-cadherin 発現レベルの関係について検討した。また Log-rank test で生存率の差異について検討した。

結 果

S100A4 の染色強陽性は 10 例 (23.3%)、中等度陽性は 13 例 (30.2%)、弱陽性は 6 例 (13.9%)、陰性は 14 例 (32.6%) であった。腫瘍細胞の細胞質が染色された。S100A4 の発現増強は腫瘍の分化度、ステージ、及び浸潤のパターンとの関連性は認められなかった。リンパ節の転移と 5 年以上の生存率では、S100A4 染色強陽性と中等度陽性の場合に比較して弱陽性と陰性の場合、有意に転移の頻度が低く生存率も高かった。

E-cadherin の染色強陽性は 10 例 (23.3%)、中等度陽性は 11 例 (25.6%)、弱陽性は 13 例 (30.2%)、陰性は 9 例 (20.9%) であった。腫瘍細胞の細胞膜が染色されたばかりか、細胞質も染色された。E-cadherin の染色低下は、腫瘍のステージ、浸潤のパターン、リンパ節の転移との関連性が認められたが、腫瘍の分化度との関連性は認められなかった。5 年以上の生存率では、E-cadherin 染色弱陽性と陰性の場合に比較して強陽性と中等度陽性の場合有意に生存率が高かった。

また、S100A4 と E-cadherin の染色結果の関係について分析した。S100A4 と E-cadherin の発現レベルは逆の関係があることを示した。続いて、S100A4 と E-cadherin の総合染色程度によって、4 グループに分けた: A: S100A4(2+,3+)/E-cadherin(+), B: S100A4(+,+)/E-cadherin(2+,3+), C: S100A4(2+,3+)/E-cadherin(2+,3+) と D: S100A4(+,+)/E-cadherin(+). リンパ節転移の頻度について、4 グループの間に有意差を認めた。Kaplan-Meier 法で、A グループは B グループより生存率が有意に低かった、しかし、C グループ、D グループとの間には有意差が認められなかった。

腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンと S100A4 及び E-cadherin の発現レ

ベルによって、われわれは SCC のリンパ節転移と予後を評価する新しいシステム (DTISE システム) を作った。このシステムは 0 から 15 までのポイント値を可能にする。リンパ節の転移では、8 ポイント以上の場合に比較して 7 ポイント以下の場合には転移の頻度が有意に低かった。5 年以上の生存率では、8 ポイント以上の場合に比較して 7 ポイント以下の場合有意に生存率が高かった。

考 察

S100A4 は、1 番染色体の q21 に存在する S100 ファミリーの一つである。In vitro の研究では、S100A4 の発現増強はヒトの扁平上皮癌の浸潤性と深く関与することが報告されている。加えて、臨床的研究では、種々の悪性腫瘍における S100A4 の発現増強は予後不良と密接な関連性があると報告されている。われわれの口腔扁平上皮癌の検討では、S100A4 の発現増強はリンパ節転移と予後不良に関連性があることが示された。しかし、腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンとの関連性は認められなかった。これは非小細胞型肺癌と乳癌の研究報告と一致した。

In vitro の系では細胞間の粘着分子 E-cadherin は上皮細胞の浸潤性生長を抑圧する。SCC についての研究では、E-cadherin の発現低下はリンパ節転移と予後不良に深く関連性があると報告されている。われわれの研究報告は前の研究報告と一致した。さらに、E-cadherin の発現低下は腫瘍のステージと浸潤のパターンに関連性があることを示した。しかし、腫瘍の分化度との関連性は認められなかった。これは Shinohara などの研究報告と類似した。

最近、murine cell の研究では、S100A4 と E-cadherin 発現レベルは逆の関係にあると報告されている。胃癌と非小細胞型肺癌では、S100A4 は cadherin-catenin 複合のメンバーの間に逆の関係があると報告された。しかし、乳癌では、S100A4 と E-cadherin および α -or β -catenin 発現レベルの関係は認められなかった。本研究の結果によって、口腔扁平上皮癌では、S100A4 と E-cadherin の発現レベルは逆の関係にあることが示された。これは胃癌と非小細胞型肺癌の研究結果と一致した。

S100A4 と E-cadherin の総合染色程度によって、4 グループに分けた、リンパ節転移の頻度について、4 グループの間に有意差が認められた。この結果は S100A4 と

E-cadherin 両方ともリンパ節転移の評価に重要性があることを示唆した。一方、単に S100A4(-,+)/E-cadherin(2+,3+) グループ、所謂 B グループにおいて、予後良好がみとめられた。従って、S100A4 と E-cadherin いずれも異常な発現は予後不良と密接な関連性があることが示唆された。

臨床病理学のパラメータ、例えば、腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンは口腔扁平上皮癌の予後因子であると報告されている。本研究のデータでも、腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンはリンパ節転移と予後の判定に極めて有用であることが示された。そこで、腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンと S100A4 及び E-cadherin の発現レベルによって、われわれは SCC のリンパ節転移と予後を評価する新しいシステム (DTISE システム) を作成した。統計分析で、DTISE システムはリンパ節転移と予後を正確に評価できるシステムであることが示唆された。

本研究では、S100A4 と E-cadherin の発現はリンパ節転移と予後に密接な関連性があることを示し、S100A4 と E-cadherin は口腔扁平上皮癌における重要な予後因子であることが示唆された。

| 論文審査の結果の要旨 | | | |
|------------|---|----|-------|
| 受付番号 | 甲第1557号 | 氏名 | 張 剣 明 |
| 論文題目 | The Evaluation of both Metastasis and Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma by S100A4 and E-cadherin Immunostaining 口腔扁平上皮癌におけるS100A4とE-cadherin発現の臨床的意義 | | |
| 審査委員 | 主 査 古 森 孝 英 副 査 横 崎 亮 副 査 田 生 健 一 | | |
| 審査終了日 | 平成16年 / 月 29 日 | | |

(要旨は1,000字～2,000字程度)

口腔扁平上皮癌の予後判定において、癌の浸潤、転移に関連する分子についての研究は極めて重要である。たとえばS100A4は、カルシウムと結合するS100蛋白質ファミリーの一種であり、癌の転移と関連する分子で、S100A4の発現増強は種々の癌のリンパ節転移と予後不良に密接な関連性があるとされているが、口腔扁平上皮癌においてはこれまで検討されていない。また、E-cadherinの発現低下は口腔扁平上皮癌と他の腫瘍のリンパ節転移と予後不良に密接な関連があり、S100A4の発現レベルと逆の関係があるとされている。本研究では、このようなS100A4の免疫染色の結果と臨床病理学のパラメータの関係、およびS100A4とE-cadherinの関係について検討した。

[方法]

本研究では、本学医学部附属病院で治療を受けた口腔扁平上皮癌43例の手術標本から、4mmの切片を作製して、抗S100A4抗体と抗Human E-cadherin抗体を用いてSAB法にて免疫染色を行った。S100A4の染色程度は陽性腫瘍細胞の比率によって、強陽性から陰性まで4段階に分けた。E-cadherinの染色は正常上皮と比較した表現低下の程度によって、強陽性から陰性まで4段階に分けた。

[結果]

S100A4の染色強陽性は10例 (23.3%)、中等度陽性は13例 (30.2%)、弱陽性は6例 (13.9%)、陰性は14例 (32.6%) であり、リンパ節の転移と5年以上の生存率では、S100A4染色強陽性と中等度陽性に比較して弱陽性と陰性の場合、有意に転移の頻度が低く生存率も高かった。

E-cadherinの染色強陽性は10例 (23.3%)、中等度陽性は11例 (25.6%)、弱陽性は13例 (30.2%)、陰性は9例 (20.9%) であり、5年以上の生存率では、E-cadherin染色弱陽性と陰性に比較して強陽性と中等度陽性の場合有意に生存率が高かった。

S100A4とE-cadherinの染色結果の関係については、A:S100A4(2+, 3+)/

E-cadherin(-, +), B:S100A4(-, +)/E-cadherin(2+, 3+), C:S100A4(2+, 3+)/E-cadherin(2+, 3+), D:S100A4(-, +)/E-cadherin(-, +)の4グループに分けて検討し、リンパ節転移の頻度について4グループ間で有意差を認めた。

また、腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンとS100A4及びE-cadherinの発現レベルから、リンパ節転移と予後を0から15までの値で評価する新しいシステム (DTISEシステム) を作成し、7以下の場合には転移の頻度が低く、5年生存率が高いことを認めた。

[考察]

本研究により、S100A4の発現増強は口腔扁平癌のリンパ節転移と予後不良に関連性があることが示された。しかし、腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンとの関連性は認められなかった。またE-cadherinの発現低下は腫瘍のステージと浸潤のパターンに関連性があったが、腫瘍の分化度との関連性は認められなかった。

S100A4とE-cadherinの発現レベルは逆の関係にあることが示されたが、いずれも異常な発現は予後不良と密接な関連性があることが、染色結果を4グループに分けた結果より示唆された。

また、腫瘍の分化度、ステージ、浸潤のパターンはリンパ節転移と予後の判定に極めて有用であるが、これにS100A4及びE-cadherinの発現レベルを組合せた新しいシステム (DTISEシステム) は、統計分析の結果リンパ節転移と予後を正確に評価できるシステムであることが示唆された。

本研究は、口腔扁平癌におけるS100A4とE-cadherin発現について、その臨床的意義を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかったリンパ節転移と予後との関連性について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。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。