



Lymphangiogenesis and Lymph Node Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma

Arimoto, Satomi

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2019-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7336号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007336>

※ 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

Lymphangiogenesis and Lymph Node Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma

口腔扁平上皮癌におけるリンパ管形成とリンパ節転移

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：古森 孝英教授)

有本 智美

【緒言】

口腔扁平上皮癌（OSCC）は口腔癌の90%以上を占めており、高度な局所浸潤および頸部リンパ節転移によって特徴付けられる。OSCCにおける頸部リンパ節転移の把握は、有効な治療戦略を決定する重要な因子である。しかし、大きな原発巣腫瘍を有するが頸部リンパ節転移を有さない症例・小さな腫瘍を有するが頸部リンパ節転移を有する症例もあり、頸部リンパ節転移は予測困難である。近年リンパ管形成の増加は、OSCCを含む頭頸部癌における頸部リンパ節転移と関連することが示された。Podoplaninは、リンパ管内皮細胞に特異的に発現することからリンパ管の特異的マーカーとして利用されている。また、LYVE-1はリンパ管内皮に発現し、白血球遊走および腫瘍転移に関与するヒアルロン酸の受容体である。しかしながら、PodoplaninとLYVE-1がOSCCの頸部リンパ節転移有無の予測に有用であるかは明らかでない。特に、OSCCの頸部リンパ節転移有無を予測するためのReal-time PCR法に関する報告はない。したがってこの度、OSCCにおけるPodoplaninおよびLYVE-1の発現と頸部リンパ節転移を含めた他の病理学的所見との関連を、Real-time PCR法および免疫組織化学染色法を用いて検討を行った。

【材料と方法】

2013年から2017年までの間に神戸大学医学部附属病院の歯科口腔外科で根治手術を行った口腔扁平上皮癌の一次症例のうち、化学療法・内分泌療法・放射線療法の既往がなく、十分に腫瘍組織・正常組織の採取可能であった33例とした。採取組織を-80℃にて凍結保存し、採取2か月以内にTRIzol試薬にてRNA抽出を行った。RNAをcDNAへ変換後、リファレンス遺伝子をGAPDHとし、SYBR GreenによるReal-time PCR法を行った。免疫組織化学染色法は4μmパラフィン切片を用いて、proteinase K・3% H₂O₂にて処理後4°Covernightにて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。スライド評価方法に関してPodoplaninはGerman immunoreactive score (IRS)を用い、LYVE-1は3か所のホットスポット領域のカウントを行い、ともに高発現群・低発現群に分けて評価した。

【結果】

性別は男性20例、女性13例であり、年齢は41歳～88歳（中央値69歳）であった。原発部位は、舌11例、下顎歯肉10例、上顎歯肉6例、頬粘膜4例、口底2例であった。病理学的T分類はT1 4例、T2 13例、T3 7例、T4 9例、頸部リンパ節転移15例であった。病理組織学的分化度は、高分化型が13例、中分化型が15例、低分化型が5例であった。

Real-time PCR法において、Podoplanin・LYVE-1ともに頸部リンパ節転移(-)群と比較して、頸部転移(+)群にて発現が明らかに上昇した($p<0.01$)。病理組織学的分化度においては、高分化型と比較して、中分化型+低分化型群にて発現が上昇した($p<0.01$ Podoplanin, $p<0.05$ LYVE-1)。免疫組織化学染色法においては頸部リンパ節転移(-)群と比較して、頸部転移(+)群にてPodoplanin・LYVE-1ともに発現が上昇した($p<0.01$ Podoplanin, $p<0.05$ LYVE-1)。また、病理学的T分類においてはT1-2群と比較してT3-4群においてPodoplaninで発現が上昇した($p<0.01$ Podoplanin)。その他の項目に有意差を認めなかった。

【討論】

今回の研究において、OSCCにおけるPodoplaninおよびLYVE-1の発現と頸部リンパ節転移に強い関連を認めた。Podoplaninは糸球体上皮細胞のムコタンパク質であり、正常組織においてリンパ管内皮細胞・骨格筋・唾液腺の筋線維芽細胞・骨芽細胞およびヒト表皮の基底層において発現されると報告されている。多くの研究者が頭頸部癌と頸部リンパ節転移との関連に関して報告している。また、頭頸部癌だけでなく大腸癌・乳癌においてもリンパ節転移との関連が示唆されている。病理組織学的分化度においても以前の報告で口腔癌において高分化型と比較して、中分化型・低分化型にて発現が上昇したと報告されていた。LYVE-1はリンパ管内皮細胞に高発現し、血管内皮細胞には存在しないと報告されている。他の研究者によって口腔癌における頸部リンパ節転移との関連も報告されている。また、膀胱癌・胃癌においてもリンパ節転移との関連が示唆されている。我々の研究でReal-time PCR法において、頸部リンパ節転移・病理組織学的分化度でPodoplanin・LYVE-1ともに有意差を認めた。また、免疫組織化学染色法においては頸部リンパ節転移において有意差を認めた。さらにデータを蓄積し、今後既存の検査方法だけでなく、生検組織を利用してReal-time PCR法により術前に頸部転移の有無を予測可能になれば、術者・患者にとって非常に有益な情報となりえると考ええる。しかしながら、今回の研究においては症例数が少ないこと・経過観察期間が短いことから、今後はさらなる症例の蓄積と予後との関連を検討する必要があると考ええる。

【結論】

今回の研究において、腫瘍組織におけるPodoplaninおよびLYVE-1の発現とOSCCの頸部リンパ節転移との関連が示唆された。この研究が今後、治療や患者の利益に寄与することを願っている。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2829 号	氏 名	有本 智美
論文題目 Title of Dissertation	Lymphangiogenesis and Lymph Node Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma 口腔扁平上皮癌におけるリンパ管形成とリンパ節転移		
審査委員 Examiner	主 査 寺 部 浩 人 Chief Examiner 副 査 丹 生 健 一 Vice-examiner 副 査 錦 織 千 佳 子 Vice-examiner		

(要旨は1, 0 0 0 字～2, 0 0 0 字程度)

【緒言】

口腔扁平上皮癌（OSCC）は口腔癌の90%以上を占めており、高度な局所浸潤および頸部リンパ節転移によって特徴付けられる。OSCCにおける頸部リンパ節転移の把握は、有効な治療戦略を決定する重要な因子である。しかし、大きな原発巣腫瘍を有するが頸部リンパ節転移を有さない症例・小さな腫瘍を有するが頸部リンパ節転移を有する症例もあり、頸部リンパ節転移は予測困難である。近年リンパ管形成の増加は、OSCCを含む頭頸部癌における頸部リンパ節転移と相関することが示された。Podoplaninは、リンパ管内皮細胞に特異的に発現することからリンパ管の特異的マーカーとして利用されている。また、LYVE-1はリンパ管内皮に発現し、白血球遊走および腫瘍転移に関与するヒアルロン酸の受容体である。しかしながら、PodoplaninとLYVE-1がOSCCの頸部リンパ節転移有無の予測に有用であるかは明らかでない。特に、OSCCの頸部リンパ節転移有無を予測するためのReal-time PCR法に関する報告はない。したがって申請者らは、OSCCにおけるPodoplaninおよびLYVE-1の発現と頸部リンパ節転移を含めた他の病理学的所見との関連を、Real-time PCR法および免疫組織化学染色法を用いて検討を行った。

【材料と方法】

2013年から2017年までの間に神戸大学医学部附属病院の歯科口腔外科で根治手術を行った口腔扁平上皮癌の一次症例のうち、化学療法・内分泌療法・放射線療法の既往がなく、十分に腫瘍組織・正常組織の採取可能であった33例とした。採取組織を-80℃にて凍結保存し、採取2か月以内にTRIzol試薬にてRNA抽出を行った。RNAをcDNAへ変換後、リファレンス遺伝子をGAPDHとし、SYBR GreenによるReal-time PCR法を行った。免疫組織化学染色法は4μmパラフィン切片を用いて、proteinase K・3% H₂O₂にて処理後4℃overnightにて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。スライド評価方法に関してPodoplaninはGerman immunoreactive score (IRS)を用い、LYVE-1は3か所のホットスポット領域のカウントを行い、ともに高発現群・低発現群に分けて評価した。

【結果】

性別は男性20例、女性13例であり、年齢は41歳～88歳（中央値69歳）であった。原発部位は、舌11例、下顎歯肉10例、上顎歯肉6例、頬粘膜4例、口底2例であった。病理学的T分類はT14例、T213例、T37例、T49例、頸部リンパ節転移15例であった。病理組織学的分化度は、高分化型が13例、中分化型が15例、低分化型が5例であった。

Real-time PCR法において、Podoplanin・LYVE-1ともに頸部リンパ節転移(-)群と比較して、頸部転移(+)群にて発現が明らかに上昇した($p<0.01$)。病理組織学的分化度においては、高分化型と比較して、中分化型+低分化型群にて発現が上昇した($p<0.01$ Podoplanin, $p<0.05$ LYVE-1)。免疫組織化学染色法においては頸部リンパ節転移(-)群と比較して、頸部転移(+)群にてPodoplanin・LYVE-1ともに発現が上昇した($p<0.01$ Podoplanin, $p<0.05$ LYVE-1)。また、病理学的T分類においてはT1-2群と比較してT3-4群においてPodoplaninで発現が上昇した($p<0.01$ Podoplanin)。その他の項目に有意差を認めなかった。

【考察】

今回の研究において、OSCCにおけるPodoplaninおよびLYVE-1の発現と頸部リンパ節転移に強い関連を認めた。Podoplaninは糸球体上皮細胞のムコタンパク質であり、正常組織においてリンパ管内皮細胞・骨格筋・唾液腺の筋線維芽細胞・骨芽細胞およびヒト表皮の基底層において発現されると報告されている。多くの研究者が頭頸部癌と頸部リンパ節転移との関連に関して報告している。また、頭頸部癌だけでなく大腸癌・乳癌においてもリンパ節転移との関連が示唆されている。病理組織学的分化度においても以前の報告で口腔癌において高分化型と比較して、中分化型・低分化型にて発現が上昇したと報告されていた。LYVE-1はリンパ管内皮細胞に高発現し、血管内皮細胞には存在しないと報告されている。他の研究者によって口腔癌における頸部リンパ節転移との関連も報告されている。また、膀胱癌・胃癌においてもリンパ節転移との関連が示唆されている。申請者らの研究でReal-time PCR法において、頸部リンパ節転移・病理組織学的分化度でPodoplanin・LYVE-1ともに有意差を認めた。また、免疫組織化学染色法においては頸部リンパ節転移において有意差を認めた。さらにデータを蓄積し、今後既存の検査方法だけでなく、生検組織を利用してReal-time PCR法により術前に頸部転移の有無を予測可能になれば、術者・患者にとって非常に有益な情報となりえると考ええる。しかしながら、今回の研究においては症例数が少ないこと・経過観察期間が短いことから、今後はさらなる症例の蓄積と予後との関連を検討する必要があると考える。

本研究は、口腔扁平上皮癌において、リンパ管形成とリンパ節転移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管内皮に発現してリンパ節転移に関与するPodoplaninとLYVE-1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。