

論文内容の要旨

申請者：鳴瀬 智史

主 論 文

Immunohistochemical Study of VEGF Expression in Oral Squamous Cell Carcinomas: Correlation with the mTOR-HIF-1 α Pathway

口腔扁平上皮癌における VEGF の発現に関する免疫組織化学的研究： mTOR-HIF-1 α 経路との関連について

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 医療科学専攻 展開医療科学講座 口腔腫瘍治療学分野

鳴瀬智史, 川崎五郎, 柳本惣市, 水野明夫, 梅田正博

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 医療科学専攻
(主任指導教員：梅田 正博教授)

緒 言

口腔癌治療の第一選択は外科的切除であり、近年では局所制御率の向上が認められるが、進行癌では5年生存率が5割に満たっておらず、新規治療法の開発が求められている。

口腔癌の予後を左右する因子として増殖能あるいは転移能が挙げられる。血管新生は癌細胞の増殖能および転移能と密接に関連しているが、中でも血管内皮細胞増殖因子 VEGF は血管新生を制御する因子として多くの研究がなされ、現在では VEGF 関連因子を抑制する血管新生阻害薬が末期癌の治療などに導入され始めている。低酸素環境下で増悪した癌細胞は化学療法抵抗性および高い血管新生能を有することが知られ、これは Akt-mTOR 経路の下流に位置する低酸素誘導因子 HIF-1 α が高発現することにより VEGF が誘導される結果であることが報告されている。

本研究では主に血管新生に関与する VEGF-A およびリンパ管新生に関与する VEGF-C に着目し、口腔扁平上皮癌症例におけるこれらの発現と臨床病理学的因子との関連を明らかにするとともに、mTOR-HIF-1 α 経路との関連性を調べることを目的として研究を行った。

対象と方法

1998~2007年の間に当科で治療を行い、病理組織学的に扁平上皮癌と診断され検討可能であった生検時標本120症例および正常組織10症例を用いた。パラフィン包埋切片にVEGF-A, VEGF-C p-mTOR, HIF-1 α に対する抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、臨床的因子ならびに浸潤様式との関連性について検討した。さらにPCNAに対する特異抗体を用い、癌細胞の増殖能とmTOR経路との関連性についても併せて検討した。サンプルの評価には陽性細胞率(0, none; 1, <10%; 2, 10-50%; 3, 50-80%; 4, >80%)および染色強度(0, 染色なし; 1, 弱染色; 2, 中等度染色; 3, 強度染色)を掛けあわせ、スコア4以上を陽性とした。

臨床的因子としては性・年齢・TNM分類および分化度について、また浸潤様式は山本・小浜

分類（以下YK分類）を用いて検討した。

統計学的評価として、各サンプルと臨床病理学的因子との関連性はFischer's exact test、PCNA発現率との比較としてMann-Whitney *U*検定、生存率はKaplan-meier法およびLog-rank検定にて算出し、 $P < 0.05$ をもって有意とした。

結 果

VEGF-A, VEGF-C, p-mTOR および HIF-1 α の発現は正常口腔粘膜と比較し、扁平上皮癌において特異的に発現していた。VEGF-A は年齢および腫瘍長径と有意な相関性が認められ、癌細胞増殖能との相関が示唆されたが、YK 分類による浸潤様式との相関性はみられなかった。VEGF-C では臨床的因子との間に有意な相関性は認められなかったが、浸潤様式との間には相関性が認められた。p-mTOR は臨床的因子および浸潤様式との間に有意な相関性は認められなかったが、HIF-1 α では腫瘍長径および所属リンパ節転移との間に有意な相関性が認められた。

続いて p-mTOR-HIF-1 α 経路 (p-mTOR-HIF-1 α 共陽性群) と増殖能との関連性を調べるため、PCNA 発現との関連性について検討を行ったところ、p-mTOR/HIF-1 α 共陽性群に有意に高い PCNA の発現が認められた。

最後に VEGF と p-mTOR-HIF-1 α 経路との関連性について検討した。p-mTOR/HIF-1 α 共陽性群に VEGF-A は 91%、VEGF-C は 93% と高い発現が認められた。また腫瘍長径および所属リンパ節転移および浸潤様式との検討でも悪性度の高い群で有意に高い発現が認められた。mTOR-HIF-1 α -VEGF 経路と生存率との検討では、有意な相関性は認められなかった。

考 察

本研究結果より mTOR-HIF-1 α 経路の発現に関連して VEGF-A および VEGF-C が誘導されることが示唆された。mTOR-HIF-1 α -VEGF 経路の発現は癌の増殖能、転移能および YK 分類による浸潤様式とも密接に関連していると考えられ、この経路の抑制は今後の口腔癌の新たな治療法となる可能性が示唆された。

近年、分子標的治療薬のひとつである mTOR 阻害薬が幾つかの固形腫瘍に対し高い抗血管新生効果を有することで注目され、腎細胞癌では臨床治験においても有用な報告がなされている。しかしながら、口腔癌領域では実験的モデルレベルから臨床応用可能な evidence の報告には至っていない。今後、in vitro および in vivo での mTOR 阻害薬を用いた検討は口腔癌領域における新規抗癌治療の開発に貢献できると考えられる。