

# 今山直美 論文内容の要旨

主 論 文

FOXC2 expression is associated with tumor proliferation and invasion potential  
in oral tongue squamous cell carcinoma

舌扁平上皮癌において FOXC2 発現は腫瘍の増殖と浸潤能と関連する

著者名 ; 今山直美、山田慎一、柳本惣市、鳴瀬智史、松下祐樹、高橋英哲、  
関 幸子、藤田修一、池田 通、梅田正博

(Pathology & Oncology Research, in press)

[39 頁]

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

口腔癌の予後を左右する因子の一つに癌細胞の転移・浸潤がある。腫瘍の浸潤・遊走を促進し、腫瘍の進展に寄与する上皮間葉転換を誘導する因子の一つに、転写因子であるフォークヘッド遺伝子 (FOXC2) がある。FOXC2 の腫瘍組織における発現については、その役割はまだ明らかではないが、E-cadherin の発現を抑制し腫瘍の浸潤や転移に関与することが報告されている。上皮間葉転換を誘導する経路のひとつに Notch/D114 経路があり、FOXC2 は Notch 受容体に結合するリガンド (D114) や転写因子 (Hey2 プロモーター) を活性化するとされ、Notch/D114 経路は VEGF (血管内皮細胞増殖因子) によって誘導され、腫瘍の血管新生を促進すると言われている。FOXC2 と VEGF との関連性については、その作用機序は明らかとはなっていないが、VEGF が FOXC2 の発現を促進する可能性があることが報告されている。

FOXC2 の発現は乳癌細胞においては、EMT 中の間葉系への分化促進やリンパ節転移に関与し、食道癌や胃癌においては、リンパ節転移との相関や予後不良因子となりうることを報告されている。しかしながら、頭頸部癌領域における報告は少なく、口腔癌、その中でも特に発生頻度の高い舌扁平上皮癌において、FOXC2 発現を検討し予後因子なる可能性と細胞生物学的特性との関連を検討した。

## 対象と方法

材料：2003～2012年間に当科を受診し、舌扁平上皮癌の病理組織学的診断を得た未治療の生検時標本61例と、5種類の舌扁平上皮癌由来細胞株（HSC3, HSC4, SAS, OSC20, SCC25）を用いた。

方法：生検時標本61例において、抗FOXC2抗体、抗VEGF-A抗体および抗VEGF-C抗体を用いてそれぞれ免疫組織化学的染色を行い、舌扁平上皮癌組織におけるFOXC2、VEGF-AおよびVEGF-Cの発現について観察し、FOXC2発現と臨床病理学的因子および生存率、予後との関連について検討した。舌扁平上皮癌組織におけるFOXC2、VEGF-AおよびVEGF-C発現の評価法としてH-score（McCarty KS, et al.）を用い、score75以上の症例を過剰発現群とした。また細胞生物学的特性については5種類の舌扁平上皮癌由来細胞株を用いて、matrigel invasion assayで浸潤能を、MTT assayで増殖能を評価し、FOXC2のmRNA発現との関連を検討した。

## 結 果

免疫組織学的染色において、FOXC2の染色は正常組織や上皮異形成を伴う組織にはほぼ発現は見られず、主に腫瘍組織の細胞質に見られ、一部の症例においては核の染色も見られた。VEGF-AおよびVEGF-Cの発現は主に腫瘍細胞の細胞質に認められた。舌扁平上皮癌組織におけるFOXC2の発現と臨床病理組織学的因子における相関について、フィッシャーの直接確率検定を用いて解析したところ、浸潤様式（YK分類： $p=0.027$ ）、およびVEGF-A（ $p<0.01$ ）およびVEGF-C（ $p<0.01$ ）との間に有意な相関が認められた。

FOXC2の発現と生存期間における相関について、カプランマイヤー法による疾患特異的生存率を検討したところ、FOXC2過剰発現群において生存率の有意な低下が見られた（ $p<0.001$ ）。

またFOXC2発現が新たな予後因子となり得るかを検討する目的に、ログランク検定による単変量解析とcox比例ハザードモデルによる多変量解析を行った。単変量解析N分類、Stage分類、YK分類、局所再発、FOXC2過剰発現、VEGF-A過剰発現との間に有意な相関が認められた。これらの因子について多変量解析を行ったところ、N分類、Stage分類、YK分類、局所再発、FOXC2過剰発現に予後との有意な相関が認められ、FOXC2の発現は舌扁平上皮癌患者において有意な独立した予後因子となる可能性が示唆された。

FOXC2の細胞生物学的特徴を検討するために5種類の舌扁平上皮癌由来細胞株を用いて、FOXC2のmRNA発現について検討した。RT-PCRにおいてFOXC2のmRNAレベルでの発現を検討したところ、HSC3、SASにおいてFOXC2の高い発現強度が認められた。FOXC2のmRNAの発現と増殖能の間に有意な相関性が認められた（ $p<0.05$ ）。また、FOXC2のmRNAの発現と浸潤能との間には有意な相関はみられなかったが、相関する傾向が認められた。

## 考 察

舌扁平上皮癌においてFOXC2の発現はVEGFの発現と相関し腫瘍細胞の増殖・浸潤能に影響を及ぼす可能性が示唆された。また、FOXC2過剰発現症例では予後不良となり、FOXC2の発現は予後因子となりうる可能性が示唆された。