

学位論文審査の要旨

論文提出者	宮本 侑果
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 永山 元彦 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 村松 泰徳 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 菌村 貴弘
論文題目	口腔がんの浸潤に関連する Cortactin と CD44v6 の病理組織学的検索
【目的】	<p>口腔がんの中で最も多い上皮性悪性腫瘍の癌腫では、癌細胞の浸潤性獲得に上皮間葉転換(Epithelial mesenchymal transition, EMT)が生じ、その際に細胞質内の中間径フィラメントである F-actin とアクチン結合タンパク質 (actin-binding protein, ABP)の一つである Cortactin で構成される浸潤突起 (Invadopodia)が関与すると考えられている。Cortactin は様々な機能を有していることが明らかとなっており、その一つに癌細胞における浸潤性獲得が遺伝子レベルからタンパクレベルで報告されているが、詳細については不明である。一方、細胞外マトリックスのヒアルロン酸レセプターの CD44v6 も様々な癌において転移や予後との関連性が報告されているが、癌の種類によってタンパク発現の増加と減少がみられるなど共通した見解は得られていない。そこで、口腔がん病巣の中心部や浸潤先端部における Cortactin ならびに CD44v6 の発現動態について検討した。</p>
【材料および方法】	<p>朝日大学医科歯科医療センターならびに朝日大学病院歯科口腔外科において、扁平上皮癌 (Squamous cell carcinoma, SCC)の病理診断がついた 20 症例を対象にホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE)材料計 33 ブロックを使用した。33 ブロックの FFPE 切片を対象に HE 染色ならびに正常上皮マーカーである CK13, 異型上皮マーカーである CK17 免疫組織化学染色を行い、手術検体標本を正常部 (Normal), 上皮性異形成症部 (Oral epithelial dysplasia, OED), 浸潤部 (Invasive cancer, IC)に分類し、IC に関しては浸潤中心部 (IC central, ICC)と浸潤辺縁部 (IC peripheral, ICP)に分け、4 病変部位を解析対象とした。次にそれら 4 病変部位を含む 24 ブロックの FFPE 切片を対象に Cortactin ならびに CD44v6 免疫組織化学染色を行った。Cortactin は細胞質の染色性を 0~3 pt で評価し、CD44v6 は陽性細胞率と Fiji を用いた染色強度を比較した。統計は Kruskal-Wallis および Steel-Dwass 検定を用いて危険率 $p < 0.05$ とした。Cortactin 陽性細胞のタンパク局在を微細に観察するために、DAB 発色後の Cortactin 免疫組織化学染色標本のカバーガラスを剥がし、1%四酸化オスミウムで後固定を行った標本を最初に低真空走査型電子顕微鏡(LV-SEM)で観察し目的とする細胞をスクリーニング後、レジン包埋によるもどし電顕を実施し、透過型電子顕微鏡(TEM)で観察した。次に Cortactin 遺伝子である <i>CTTN (EMS1)</i>の遺伝子増幅の有無を調べるために DNA-FISH を行った。評価は乳癌の HER2 遺伝子増幅判定法に準拠し行い、統計は Kruskal-Wallis および Steel-Dwass 検定を用いて危険率 $p < 0.05$ とした。最後にリンパ節転移のある 3 症例を対象に、原発巣とリンパ節転移部位の FFPE 切片に Cortactin/CD44v6 蛍光二重免疫染色を行い、原発部位と転移部位の染色性を比較した。</p>

【結 果】

1. Cortactin はタンパクレベルにおいて異型上皮で強い発現性を示し、特に浸潤辺縁部で顕著な発現を認めた。電子顕微鏡レベルでも浸潤部において細胞質全体に高信号を示す癌細胞は細胞質内の小胞体に沿って Cortactin 陽性所見を認め、細胞膜周辺に強い陽性を示す癌細胞は細胞膜辺縁に存在するアクチンフィラメントに沿って Cortactin 陽性所見を認めた。また遺伝子レベルにおいても浸潤部、特に浸潤先端部で *CTTN* の増幅を認めた。
2. CD44v6 はタンパクレベルで、浸潤先端部で発現の消失と同時に浸潤中心部で発現増加を認めた。
3. リンパ節転移症例では、原発巣の癌細胞は浸潤中心部では Cortactin と CD44v6 の共発現を示す癌細胞が中心で、浸潤先端部では Cortactin 陽性かつ CD44v6 陰性を示す細胞が著明に認められた。転移癌細胞では、原発巣の浸潤先端部と同様の染色性を示す細胞を認めた。

【考 察】

実験結果より、Cortactin 発現強度と浸潤能力は正の関連性があり、浸潤突起形成と関係があることが示唆された。一方、CD44v6 は口腔がんが進展していく過程において、発現の増加と減少を繰り返していることが示唆された。特に Cortactin 強陽性かつ CD44v6 陰性細胞が最も浸潤能および転移能が高い細胞であることが示唆された。

【結 論】

Cortactin および CD44v6 は浸潤性の予測やリンパ節転移の予測因子の一つとして期待できる可能性がある。

以上の内容を踏まえて審査委員は質疑応答の上、本論文を博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。