

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	櫻井 繁
学位授与の条件	学位規則第4条第1・②項該当		
論文題目			
口腔扁平上皮癌におけるインテグリン αv ファミリー発現の臨床病理学的意義			
論文審査担当者			
主査	教授	香西克之	印
審査委員	教授	栗原英見	
審査委員	准教授	虎谷茂昭	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>がんの浸潤・転移は，がん細胞自身の特性のみならず，周囲の間質細胞や間質成分など，宿主との相互作用によっても制御されていると考えられている．間質成分の主な構成蛋白である細胞外基質蛋白は，組織や器官の構築を維持する機能だけではなく，成長因子やサイトカインなどの液性因子と同様に，細胞膜上に存在するインテグリンと結合することにより，多様な生物活性を示し，がん細胞の増殖，蛋白分解酵素産生，細胞接着や運動の調節因子として，がんの浸潤・転移においても重要な役割を担っていることが知られている．</p> <p>インテグリンは，α鎖とβ鎖からなるヘテロ二量体の膜貫通型の糖タンパク質で，細胞外基質の受容体として細胞の接着に加え，細胞の増殖や運動などを制御するシグナルの伝達を行っていることが知られている．現在までに18種類のα鎖と8種類のβ鎖が存在し，24種類のヘテロ二量体を形成することが確認され，特に，インテグリンαvファミリーは，がん細胞の運動能のみならず蛋白分解活性を調節し，がんの浸潤・転移に密接に関与していると考えられている．</p> <p>本研究では，広島大学病院顎・口腔外科にて加療した口腔扁平上皮癌における，インテグリンαvとαvのカウンターパートである$\beta 1$，$\beta 3$，$\beta 5$，$\beta 6$及び$\beta 8$の発現を免疫組織学的に検索した．さらに，インテグリンを介するシグナル伝達に関与しているFocal Adhesion Kinase (FAK)及びリン酸化FAK (pFAK)の発現についても検討し，これら発現と，臨床病理学的因子と生存率との関連性について解析した．</p> <p>2001年1月から2013年9月までの間に広島大学病院顎・口腔外科において外科的治療を中心に加療した口腔扁平上皮癌210例のうち，試験切除標本に対して免疫組織学的解析が可能であった96例を対象として検討した．</p> <p>免疫組織学的検討は以下の方法で行った．10%ホルマリン固定パラフィン包埋標本より$5\mu m$の切片を作製し，キシレン及びエタノールにて脱パラフィンを行った後，抗原の賦活</p>			

化のため、pH 4.0 の 10 mM クエン酸液または pH 8.0 の 1 mM EDTA を用いて、99 °C で 15 分間処理後、室温・遮光下、0.3 %過酸化水素添加メタノールで 10 分間処理し、内因性ペルオキシダーゼをブロックした。続いて、PBS で洗浄し、10 % BSA でブロッキング後、一次抗体で室温、60 分間、反応させた。なお、一次抗体として抗 α v 抗体、抗 β 1 抗体、抗 β 3 抗体及び抗 β 5 抗体を使用する際には切片をクエン酸で処理し、抗 FAK 抗体では EDTA 処理にて、抗原の賦活化を行った。二次抗体として、Dako 社の EnVision kit の HRP 標識デキストラン結合抗ウサギ IgG 抗体を用いて室温下 30 分間反応させた。その後、diaminobenzidine (DAB) にて発色を行ない、ヘマトキシリンにて核染色後、脱水、透徹、封入し検鏡した。

染色評価は、染色強度により、①全く染色されなかったもの、②弱染色、③強染色の三群にわけ、全く染色されなかったものを陰性、弱染色と強染色を陽性と判定することで行った。インテグリン α v ファミリー、FAK または pFAK 発現と、各臨床病理学的因子との相関は、 χ^2 検定または Mann-Whitney U 検定で解析した。また、生存曲線の算出は Kaplan-Meier 法で行い、インテグリン α v ファミリー、FAK または pFAK の陰性群と陽性群間の生存率の有意差は、logrank 検定を用いた。いずれも危険率 5 %以下を有意差ありと判定した。その結果、以下のことが明らかとなった。

1. インテグリン α v, β 1, β 6 及び β 8 は口腔扁平上皮癌細胞で発現していたが、 β 3 及び β 5 は発現していなかった。
2. インテグリン β 6 発現陽性症例の 10 年生存率は、陰性症例のそれと比較して有意に低下しており、インテグリン β 6 は、口腔扁平上皮癌の予後予測因子となりうる可能性が示唆された。
3. インテグリン β 8 発現陽性症例では、所属リンパ節転移が有意に上昇していたことから、インテグリン β 8 は所属リンパ節転移の予測因子となりうる可能性が考えられた。
4. pFAK 発現陽性症例では、陰性症例と比較して 10 年生存率が有意に低下していたことから、pFAK は口腔扁平上皮癌の予後予測因子となりうる可能性が示唆された。

以上の結果より、インテグリン β 6 及び pFAK 発現症例では、10 年生存率が有意に低下していること、さらに β 8 発現症例の頸部リンパ節転移が有意に上昇していることが示され、 β 6, β 8 や pFAK が、臨床においても口腔扁平上皮癌の進展に深く関与していることが明らかになった。すなわち β 6 及び pFAK は口腔扁平上皮癌の予後予測因子として、また β 8 は口腔扁平上皮癌のリンパ節転移予測因子として有用性が示され、今後、これら分子を標的とした口腔癌の新たな診断・治療法の開発の可能性が考えられた。

本論文は、口腔外科学をはじめ口腔科学や歯科医学の発展に寄与するところが大きいものと評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が 櫻井 繁 に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。