

丹治義之 学位論文審査要旨

主 査 池 口 正 英
副主査 井 藤 久 雄
同 領 家 和 男

主論文

Runt-related transcription factor 3 expression in human oral squamous cell carcinomas; implication for tumor progression and prognosis

(ヒト口腔扁平上皮癌におけるRUNX3の発現；腫瘍の進行および予後との関連)

(著者：丹治義之、尾崎充彦、長濱由美、小谷 勇、領家和男、井藤久雄)

平成18年 Oral Oncology 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Runt-related transcription factor 3 expression in human oral squamous cell carcinomas; implication for tumor progression and prognosis

(ヒト口腔扁平上皮癌におけるRUNX3の発現；腫瘍の進行および予後との関連)

口腔領域の悪性腫瘍の中で扁平上皮癌 (Squamous cell carcinoma: SCC) は最も頻度が高い。また、口腔上皮の異形成は時にSCCへと発展する前癌病変である。異形成からSCCへと進展する病理学的機構を検討することは有益である。

RunxとはRuntドメインを有する脊椎動物の遺伝子で、Runx1は造血細胞の分化に、Runx2は骨形成に、Runx3は胃上皮細胞の増殖制御や脊髄神経節の形成に重要な役割を果たすことが報告されている。RUNX3はTGF- β シグナル経路においてSmadと結合して核内に移行し転写因子として働き、細胞増殖および細胞分化を制御していると報告されている。また、ヒト胃癌ではRUNX3 mRNA発現がメチル化により抑制され、胃癌の形成や進展に関与することが報告されている。近年、胃癌、肺癌、食道癌、大腸癌、肝細胞癌など様々なヒト悪性腫瘍においてRUNX3蛋白の発現減少が報告されている。しかしながら、口腔癌におけるRUNX3発現に関する報告はない。

そこで、ヒトの口腔正常粘膜、異形成、SCCにおけるRUNX3蛋白の発現を免疫組織化学的に検討し、Ki-67、P21、P27、アポトーシスと比較するとともに、臨床病理学的因子との関連について解析した。

方 法

ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC3, HSC4, SCCKN) を培養し、ウエスタンブロット法でRUNX3蛋白の発現を調べた。また、手術材料非腫瘍部と腫瘍部におけるRUNX3蛋白の発現を調べた。正常口腔粘膜10部位、異形成51病変、SCC108病変のホルマリン固定、パラフィン包埋標本を用いて免疫組織化学的検討を行なった。病理診断はHE染色プレパラートを用い、WHOの診断基準によってSCCを高分化、中分化、低分化の3種類に分類した。免疫組織化学はストレプトアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ法にて行い、抗RUNX3ポリクローナル抗体、抗Ki-67モノクローナル抗体、抗P21モノクローナル抗体、抗P27モノクローナル抗体を用いた。それぞれ1000個以上の細胞を数え、陽性細胞数をパーセンテージで表し、ラベリングインデックス (Labeling index:LI) とした。アポトーシスについてはTUNEL法を用い、TUNEL陽性細胞比率：アポトーシスインデックス (Apoptosis index:AI) として表した。RUNX3LIが5%未満を低発現、5%以上を高発現とし、RUNX3蛋白発現と他のマーカーとを比較検討し

た。また、SCC症例のうち、StageII-IVの85症例について、RUNX3低発現群と高発現群における生存率をKaplan-Meier法を用いて検討した。

結 果

ウエスタンブロット法で、扁平上皮癌細胞株(HSC3、HSC4、SCCKN)においてRUNX3蛋白の発現は見られなかったが、手術材料においては非腫瘍部、腫瘍部とともにRUNX3蛋白の発現が見られた。一方、免疫組織化学でRUNX3蛋白は正常粘膜、異形成では有棘層から表層細胞に、また、SCCでは癌真珠周囲の腫瘍細胞に発現し、いずれも主に細胞質に分布していた。RUNX3LIは正常粘膜で 7.7 ± 1.6 、異形成で 20.8 ± 2.7 、SCCで 9.0 ± 1.3 であり、異形成とSCCとの間に統計学的有意差を認めた($P < 0.05$)。SCCでは高分化型で 12.6 ± 2.3 、中分化型で 8.7 ± 2.2 、低分化型で 2.3 ± 1.0 であり、SCCの分化度とRUNX3蛋白の発現との間には有意な相関性が認められた($P < 0.01$)。その他の検討した臨床病理学的因子とRUNX3蛋白の発現との関連はなかった。また、SCCにおけるRUNX3蛋白の発現とKi-67との間に逆相関がみられた($P < 0.01$)が、P21、P27、AIとの間には関連は見られなかった。SCC 85症例(StageII-IV)におけるRUNX3低発現群は高発現群と比較して有意に予後不良であった($P < 0.05$)。

考 察

本研究ではヒト口腔正常粘膜、異形成、SCCにおけるRUNX3蛋白の発現を明らかにした。ウエスタンブロット法では手術材料において腫瘍部、非腫瘍部共にRUNX3蛋白の発現を認めた。細胞株でのRUNX3蛋白発現欠落は過去に他臓器における報告のように、RUNX3遺伝子のメチル化による可能性が推測された。免疫組織化学ではRUNX3蛋白は正常粘膜および異形成において、有棘層から表層の分化した細胞に発現していた。SCCにおいては癌真珠周囲に発現し、組織学的分化度とRUNX3蛋白発現との相関性を裏付ける結果であった。RUNX3LIはSCCの分化度と関連し、Ki-67とは逆相関を示し、RUNX3は有棘層から表層の細胞質に発現し、増殖能の高い基底細胞層では発現しないことからRUNX3は細胞分化ならびに増殖の制御に関連することが示唆された。一方、RUNX3LIはP21、P27、AIと統計学的な関連はなく、ヒト口腔癌においてRUNX3はこれらCDKインヒビターの発現およびアポトーシス誘導と関連しないことが示唆された。一般に低分化型SCCは高、中分化型SCCよりも予後不良といわれているが、本研究において分化度とRUNX3発現の相関およびRUNX3発現と予後との有意な関連が示されたことにより、RUNX3が分化度と予後の関連を結びつける重要な因子であると考えられた。

最近の研究ではTGF- β 経路におけるSmadが腫瘍抑制因子として働くことが報告されており、TGF- β によって活性化され、RUNX3による相互作用によって修飾されるSmadはさまざまなヒト悪性腫瘍において患者の予後独立因子として報告されている。RUNX3はヒト口腔扁平上皮

癌において予後因子の一つであることが示唆された。

結 論

口腔正常粘膜や口腔扁平上皮癌におけるRUNX3蛋白の発現は細胞の分化および増殖抑制に関与すると考えられた。また、RUNX3は口腔扁平上皮癌の予後因子となることが示唆された。