

氏名	木村 裕二郎
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	医工農博4甲 第58号
学位授与年月日	令和4年9月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
専攻名	医学専攻
学位論文題名	High expression of protein tyrosine kinase 7 in oral squamous cell carcinoma: Clinicopathological correlation and prognosis relevance (口腔扁平上皮癌におけるプロテインチロシンキナーゼ 7 の高発現：臨床病理学的相関と予後との関連性)
論文審査委員	委員長 教授 桐戸 敬太 委員 准教授 端 晶彦 委員 准教授 山口 達也

学位論文内容の要旨

[目的]

本研究の目的は、プロテインチロシンキナーゼ 7 (PTK7) の免疫組織化学的染色法 (IHC) 発現と、口腔扁平上皮癌 (OSCC) の臨床病理学的因子との関連を評価することである。PTK7 の発現と癌との関係については、臓器や腫瘍の種類によって発現量が増減する可能性が示唆されている。例えば、肝内胆管癌では PTK7 の高発現が浸潤や予後不良と相関しているとの報告があるが、一方で胃がんでの PTK7 の高発現は、全生存期間および無病生存期間の良好な予後因子であることを報告されている。OSCC の PTK7 発現と浸潤性との関係を述べた報告は少数に留まる。そこで、山梨大学病院の組織標本を用いてプロテインチロシンキナーゼ 7 (PTK7) の免疫組織化学的染色法 (IHC) 発現と、口腔扁平上皮癌 (OSCC) の臨床病理学的因子との関連を検討することとした。

[方法]

山梨大学病院で舌、歯肉、口底、頬粘膜癌の外科的切除を受けた原発性 OSCC 患者 80 名から組織標本を入手した。陽性細胞の割合と染色強度に応じて IHC スコアリングを行った。IHC スコアを用いて PTK7 発現の程度を分類し、臨床病理学的因子と予後を評価した。口腔癌の病理組織学的悪性度の評価は、YK 分類を採用した。YK 分類は Jakobsson らが報告した、頭頸部扁平上皮癌に対する多因子組織学的悪性度評点法を改良し、腫瘍宿主境界部所見の一つである浸潤様式に着目し、最も悪性度の高い 4 型を索状に浸潤する 4C 型と細胞単位で浸潤する 4D 型に再分類したものである。

[結果]

IHC 高発現群 (IHC スコア 2 または 3) は 45 例、低発現群 (IHC スコア 0 または 1) は 35 例であった。高発現群と低発現群の間には、リンパ節転移 ($P = 0.008$)、分化度 ($P < 0.001$)、浸潤パターン

ン ($P < 0.001$) で有意な差が認められた。OSCC の 3 つのパラメータ (リンパ節転移、分化度、浸潤パターン) の悪化に伴い、PTK7 の発現量が増加した。全 5 年生存率は、高発現群で 59.3%、低発現群で 87.3%であった ($P < 0.05$)。生存期間に影響を及ぼす可能性のある様々な臨床病理学的特徴を、単変量解析と Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析で評価したところ、リンパ節転移と浸潤パターンで関連が認められた。

[考察]

今回の研究では、PTK7 の発現が亢進するにつれて OSCC の侵襲性が高くなることが明らかになった。多変量 Cox 回帰モデルでは、リンパ節転移、浸潤パターンの悪化で有意差が認められた。PTK7 の mRNA 発現でも OSCC の侵襲性が高くなるかどうか、TCGA のデータを用いて評価することとした。TCGA で公開されている OSCC の病理切片画像を評価して浸潤パターンを決定し、その浸潤パターンと PTK7 の mRNA 発現がどのような関係性を持つのかを調査した。

その結果、PTK7 の mRNA 発現量が増加すると、OSCC の浸潤性が高まることが認められた。ただし、TCGA には不明瞭な病理切片画像や、生存期間などの臨床情報が含まれていない症例があり、PTK7 の発現量と生存期間の関係性を十分に調べることはできなかった。

TCGA を用いて PTK7 の mRNA 発現を確認するには、十分な臨床情報との組み合わせに限界があるため、当研究室では臨床サンプルでの mRNA 発現を調査予定である。また、PTK7 はペリオスチンと相互作用し、Wnt シグナルに関与して悪性化に寄与することが知られており、そのメカニズムを分子生物学的アプローチで解明する必要がある。

まとめると、PTK7 の IHC が高発現である場合、浸潤や転移が予測されることから、PTK7 は OSCC の予後を左右するバイオマーカーとなりうることが示唆された。

[結論]

本研究では、PTK7 の IHC スコアが高いことが、潜在的な転移を予測するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

1. 学位論文研究テーマの学術的意義

本学位論文においては、口腔扁平上皮癌組織におけるプロテインキナーゼ 7 (PTK7) の発現強度を免疫組織学的に評価し、従来の組織分類である YK 分類、腫瘍の進行度 (T 因子、N 因子) さらには予後との関連性について解析がなされている。なお、この解析の基盤となるデータとして The Cancer Genome Atlas (TCGA) のデータベースが用いられており、口腔扁平上皮癌組織における PTK7 の mRNA 発現レベルと YK 分類とに相関を認めることが確認されている。免疫組織学的解析による PTK7 の発現レベルの評価には独自に設定した基準が用いられ、低発現群と高発現群とに分類されている。80 例の口腔扁平上皮癌症例が登録され、低発現群が 35 例、高発現群は 45 例であった。高発現群では、臨床

病期が進行期にあること、組織では未分化腫瘍が多いこと、また YK 分類では悪性度の高い 4 型が有意に高頻度であった。また、PTK7 高発現群では有意に生命予後が不良であることが観察された。多変量解析を用いた場合には、リンパ節転移の有無および浸潤様式と PTK7 との関連性が確認されている。

2. 学位論文及び研究の争点, 問題点, 疑問点, 新しい視点等

悪性腫瘍における PTK7 の発現変化と予後との関連については、様々ながんを対象とした先行研究が行われているが、口腔扁平上皮癌を対象とした研究は少なく本論文は独創性の高い研究であると評価できる。また、TGCA を活用した解析手法についても、その新規性を評価することができる。一方、PTK7 の発現をバイオマーカーとして、口腔扁平上皮癌の予後予測への応用を目指すことについては、PTK7 の発現と腫瘍の悪性度あるいは局所進行・リンパ節転移の有無とが強く相関している状況にあるため、既存の情報以上の有用性を示すことができるのか疑問である。また、PTK7 の発現上昇が誘導される機序、PTK7 が細胞局在依存性に異なる機能を有しているのかなど、細胞生物学的な観点からの解析・考察については明らかでない点が多く、今後の重要な検討課題であると考えられた。

3. 実験及びデータの信頼性

本研究では、臨床症例を対象として様々な臨床情報を収集するとともに、病理組織について免疫組織学的な解析が行われている。単施設で行われた研究であるが、80 例と比較的多い症例が登録されており、また統計解析も適切な手法が選択されていると判断された。免疫組織学的解析については、手法や得られた画像のクオリティには課題はないが、結果の定量化が目視のみで行われている点については、改善の余地がある。すなわち、Image J などの画像定量・計量ソフトウェアを使うことにより、より客観性の高いデータが得られるのではないかと考えられた。

4. 学位論文の改善点

論文そのものは、すでに peer review journal (Clinical and Experimental Dental Research) にも掲載されており、実験データの追加や加筆は必要ないと判断する。

一方、PTK7 を新たなバイオマーカーとして活用するためには、さらに症例を増やし、また PTK7 の上流あるいは下流の分子の活性化等の情報をも加えた解析が必要ではないかと考えられた。