

## 学位研究紹介

## 口腔扁平上皮癌・上皮内癌の側方浸潤先端と非癌上皮部とが形成する界面の病理組織学的検討とプロテオーム解析

### Histopathological characterization and proteomic analysis of the interface formed between lateral invasion fronts of oral squamous cell carcinoma/carcinoma in-situ and non-cancerous epithelial zones

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔病理学分野

阿部 達也

Division of Oral Pathology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Tatsuya Abé

#### 【緒言】

がん発生のクローン説に対峙するフィールド説すなわち field cancerization の概念は口腔扁平上皮癌 (SCC) 症例を病理組織学的に解析した Slaughter らが 1953 年に提唱した<sup>1)</sup>。それは彼らが 60 年前にすでに口腔の表在性癌という病変複合体の主たる病変・上皮内癌 (CIS) には粘膜上皮層を側方に進展し、同時多発・再発する特徴を認知していたからにほかならない。がん細胞が上皮層内を側方に進展すれば、周囲の非がん上皮細胞に対する浸潤界面が形成されるはずで、事実、病理組織診断の現場でもがんのフロント形成所見が認識されていた。しかし、口腔 SCC・CIS の側方界面が研究対象として解析されたことはなかった。

一方、近年の細胞生物学研究の展開で、「細胞競合 cell competition」という現象が注目されるようになった。これは、異なった遺伝子変異状態の細胞の接触により、細胞間に相対的な優劣関係、すなわち「勝者細胞」と「敗者細胞」の相対関係が生じ、敗者は細胞集団から細胞死などによって排除される現象である<sup>2)</sup>。

今回、我々はフィールド発がんの原点である口腔がんに立ち返り、口腔がんの進展を細胞競合現象の視点から捉え直すことを計画した。すなわち、口腔 SCC・CIS の側方浸潤先端には非がん粘膜上皮との間に形成された界面では、がん細胞と非がん細胞のあいだに競合現象が

生じているという仮説を立て、側方浸潤界面でがん細胞と非がん細胞の接触の際に相対的な「勝者」・「敗者」の関係が生じる現場を口腔 SCC/CIS を材料に検索した。

#### 【材料と方法】

口腔扁平上皮癌 SCC・上皮内癌 CIS 症例 200 例から明瞭な側方進展界面を形成した CIS 55 界面・SCC 57 界面、合計 112 界面を抽出し、形態学的検索および免疫組織化学による検索を行った。とくに明瞭な界面を形成した 10 例を選択し①界面から遠位の癌組織、②界面に直接する癌組織、③界面に直接する非癌組織、④界面から遠位の非癌組織の各 4 区域をレーザーマイクロダイセクション (LMD) 法で分取して、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法を用い、プロテオーム解析を行った。emPAI 法による定量的解析で、界面特異的蛋白質を選択し、組織切片と口腔扁平上皮癌由来細胞株 HSC-2 で、それらの発現状態を確認した。

#### 【結果と考察】

病理組織標本を再検鏡して CIS 55 界面・SCC 57 界面、合計 112 界面を抽出した。病理組織学的には、側方浸潤界面は、癌部からみて垂直型 (47%)、斜面型 (34%)、凸面型 (19%) に分類された。界面域では、細胞間隙拡大 (71%)、基底膜破壊 (83%)、癌細胞質濃縮 (65%)、アポトーシス (60%) に加えて好酸性硝子体 (36%) が出現したが、いずれも癌部で高頻度であった。好酸性硝子体は一部アポトーシスとの共通点があったが、アポトーシスとは異なる未知の細胞死機序が示唆された。以上、癌部で細胞死が亢進し、SCC・CIS 細胞が細胞競合における敗者となる可能性が示された。

一方、プロテオーム解析の結果、癌部 (区分①+②) 側で約 4,035 種の遺伝子産物 (蛋白質) (3,138 遺伝子)、非癌③+④側で 2,812 の蛋白質 (2,236 遺伝子) が同定され、SCC・CIS 細胞における細胞活性の多彩さが確認された。

定量的解析から、癌部では、非癌部より keratin (K) 17 の増加 (11 倍) と K13 の減少 (69 倍) がみられ、これまで口腔粘膜で免疫組織学的に両者の相互増減を CIS の診断基準としてきたことの正当性が定量的に検証されたと同時に、LMD 法による試料採取が正確に行われていたことが確認された。さらに 12 種のケラチン分子種発現の有意な増減があった。

癌部あるいは非癌部で特異的に発現する分子を検討したところ、癌部で emPAI 値の大きいものから tubulin alpha-1A chain, histone H1.4 ほか 7 分子が、非癌側では uncharacterized protein C2orf54 ほか 8 分子が特異的に同定された。ついで、癌部と非癌部の隣接・遠位二区分間を比較したところ、ladinin-1, interleukin-1 receptor antagonist など 7 分子の増減がみいだされた。これらの特定された分子の癌・非癌部特異的発現状況は口腔 SCC・CIS 組織切片と培養 HSC-2 細胞において免疫組織化学的に検証できたので、プロテオーム解析の精度が確認された。ただし、既知の細胞死関連分子や細胞競合関連分子は今回のプロテオーム解析では同定されなかった。

以上のとおり、口腔 SCC・CIS と非癌上皮部との界面では、特定の分子発現に変動があることが確認されたので、側方浸潤に際して界面特異的な細胞間クロストークの存在が示唆された。側方浸潤界面ではむしろ癌部に

細胞傷害性変化が強調されたが、臨床的には最終的にがん細胞が勝者となるシナリオがどの時点で成立するのかは未詳である。細胞競合の結果、癌部に細胞死をもたらす現象は制がん方策としてもユニークであり、臨床応用も視野に入れて今後さらにはがんの側方浸潤界面を詳細に解析して新たな研究領域を創出していく予定である。

### 【参考文献】

- 1) Slaughter DP, Southwick HW, and Smejkal W: "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. Clinical implications of multicentric origin. *Cancer*, 6: 963-968, 1953.
- 2) Díaz B and Moreno E: The competitive nature of cells. *Exp Cell Res*, 306: 317-322, 2005.

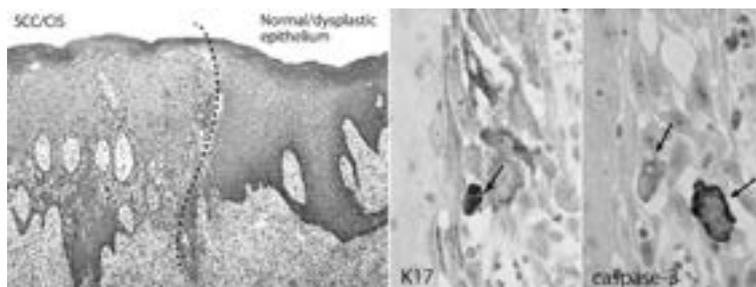


図1. 癌界面における硝子体は K17(+), caspase-3(+)

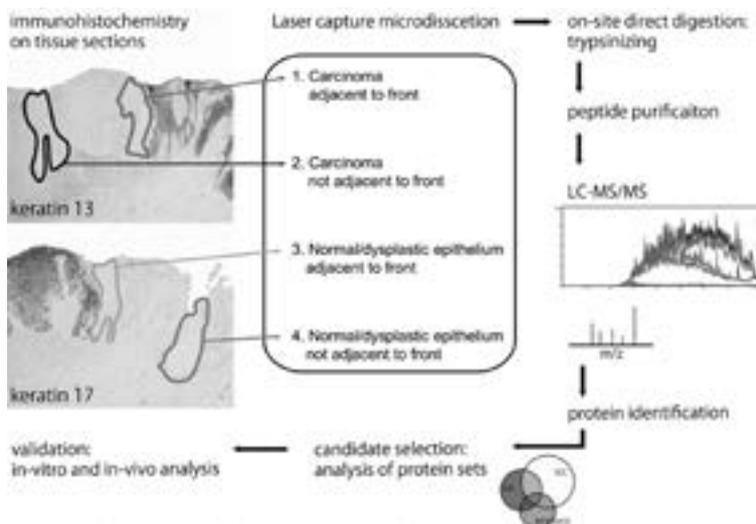


図2. 癌界面のプロテオーム解析