頭頸部扁平上皮癌における上皮成長因子受容体 (EGF レセプター) の局在について

東北大学医学部附属病院耳鼻咽喉科

大井 聖 幸, 鈴木 守, 小池 修 治, 佐竹 順 一, 松浦 一 登, 高坂 知 節

EXPRESSION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR IN SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE HEAD AND NECK

KIYOYUKI OHI, M.D., MAMORU SUZUKI, M.D., SYUJI KOIKE, M.D.

JUN-ICHI SATAKE, M.D., KAZUTO MATSU-URA, M.D. and TOMONORI TAKASAKA, M.D.

Department of Otolaryngology, Tohoku University School of Medicine, Sendai

Localization of epidermal growth factor receptor (EGFR) was investigated immunohistologically in 68 untreated patients with squamous cell carcinoma of the head and neck regions. These patients consisted of 16 with cancer of the lips and mouth, seven with mesopharyngeal cancer, six with epipharyngeal cancer, 15 with hypopharyngeal cancer, 10 with laryngeal cancer, 12 with maxillary cancer and two with other tumors (cancer of the auricle and cancer of the eyelid in one patient each). The patients consisted of 57 men and 11 women, with a mean age of 60 years. In cases with a normal oral mucosa, marked expression of EGFR was observed in the epithelial cell membrane, while expression decreased toward the luminal surface. Cancer cells also showed positive staining of EGFR in all patients, but the intensity of staining was inconsistent among them. Among the 32 patients in whom the staining intensity of EGFR was equal to or weaker than that in basal cells of the normal oral mucosa, 12 patients had lymph node metastasis. Twenty-eight of the 36 patients in whom the staining was stronger than that in the normal cells had lymph node metastasis, suggesting that overexpression of EGFR in carcinoma cells is a risk factor for lymph node metastasis of head and neck cancers ($P < 0.005$). On the other hand, there were no obvious relationships between either the size or the degree of keratinization of the primary lesion and EGFR expression.

Key words: 頭頸部腫瘍, 扁平上皮癌, EGF レセプター

A96-2039-92341

はじめに

癌の増殖, 進展には増殖因子とその受容体が深く関連していることが明らかになっている。上皮成長因子 (epidermal growth factor: EGF) はその受容体である EGF レセプター (以下 EGFR) を介して上皮細胞に作用し, その増殖に関与することが知られており¹⁾²⁾, 臨床的には EGFR の発現と癌の臨床的悪性度についての報告が多数なされている。今回, 我々は頭頸部扁

平上皮癌を対象に免疫組織学的に EGFR の発現を観察し, 臨床的悪性度との相関を検討したので報告する。

1. 対 象

頭頸部領域の扁平上皮癌未治療例68例である。68例の原発部位別内訳およびT分類, リンパ節転移の有無は表1のごとくである。性別は男性57例, 女性11例, 年齢は23~82歳 (平均年齢60歳) である。なおその他

2例は耳介癌, 眼瞼癌各1例で, UICCのTNM分類上, 頭頸部腫瘍には含まれないが, 2例とも扁平上皮癌であったため, 症例に加えた。

2. 方 法

治療前の生検腫瘍組織をOCT compound (Miles社)にて包埋し, 急速凍結した。厚さ4 μ mの切片を作製, 風乾した後, 4℃にて5分間アセトン固定した。次いで, 0.1%過酸化水素加PBSにて5分間内因性ペルオキシダーゼをブロックした後, 抗EGF-receptor抗体(Ab-1, マウスIgG, モノクローナル, Oncogene Science社)を一次抗体として4℃で一晩反応させた。二次抗体としてビオチン化抗マウスIgG抗体(Vector社)にて1時間反応させ, さらにアビジン・ビオチン化ペルオキシダーゼ複合体液(Vectastain ABCキット, Vector社)にて30分間反応させた。最後に3,3'-diaminobenzidineにて発色させ, ヘマトキシリンで核染色を施行し, 脱水, 封入の後, 光顕下に観察した。

表1 頭頸部扁平上皮癌68例の原発部位

部 位	T 1	T 2	T 3	T 4	合 計
口唇・口腔	3(0)	5(2)	4(3)	4(4)	16(9)
中 咽 頭	0	4(0)	1(1)	2(2)	7(3)
上 咽 頭	1(1)	1(0)	3(3)	1(1)	6(5)
下 咽 頭	0	7(7)	6(5)	2(2)	15(14)
喉 頭	1(0)	4(2)	2(0)	3(2)	10(4)
上 顎 洞	0	1(1)	5(1)	6(2)	12(4)
そ の 他	0	1(0)	0	1(1)	2(1)
	5(1)	23(12)	21(13)	19(14)	68(40)

() : リンパ節転移のある症例数
平均年齢: 60歳(23~82歳)

3. 結 果

EGFRの染色強度と臨床的悪性度および分化度との関係について検討した。臨床的悪性度は, リンパ節転移の有無および原発巣の大きさについて検討し, 分化度については角化度との関係を検討した。

リンパ節転移の有無については触診, CT スキャンなどで総合的に判断した。原発巣の大きさはUICC頭頸部癌T分類に従い, T1~2群とT3~4群に分類した。角化度の指標としてはBrodersの角化度分類を用いた³⁾。すなわちBrodersの分類におけるgrade 1(高度に角化した部分が75%以上), grade 2(角化部分が50~75%)を高度角化群とし, grade 3(角化部分が25~50%), grade 4(角化部分が25%未満)を低度角化群とした。

表2 EGFRの発現と臨床的悪性度および角化度

リンパ節転移の有無	EGFR	
	+	++
N(+)	12	28
N(-)	20	8
(P<0.005)		
原発巣の大きさ	EGFR	
	+	++
T 1, 2	13	15
3, 4	19	21
角 化 度	EGFR	
	+	++
Broders 1, 2	15	18
3, 4	17	18

図：EGFレセプターの発現

- a：正常口腔粘膜；EGFRが基底層から有棘層の細胞に強く発現し，表層に向かって染色の減弱，消失がみられる．発現は細胞膜に局限している．
- c, e：EGFR（+）群
- c；口腔癌，T2N0，BG4；図左方の癌細胞巢のEGFRの発現の程度は右方の正常粘膜部分と比べほぼ同等である．
- e；下咽頭癌，T3N0，BG1；細胞膜に発現がみられるが，正常上皮に比較し染色は減弱し，また，細胞同士の染色の不均一性が大きい．
- b, d, f：EGFR（++）群
- b；舌癌，T3N3，BG2；ほとんどすべての癌細胞の細胞膜に強く発現している．
- d；下咽頭癌，T2N2b，BG1；多くの癌細胞の細胞膜に強く発現しているが，一部やや染色の弱い部分もみられる．正常上皮のような層状の染色の減弱は認められない．
- f；舌癌，T2N0，BG1；ほとんどすべての癌細胞の細胞膜に強く発現している．初診時はリンパ節転移がなく，放射線治療（Ra針挿入）を施行した．3カ月後，原発巣は制御されていたが，頸部リンパ節転移をきたした例である．

BG；Broders Grade

×400，ヘマトキシリンにて核染色

正常の口腔粘膜扁平上皮におけるEGFRは基底層、有棘層に強く、表層に近づくにつれ染色の減弱、消失がみられた。また、その発現は細胞膜あるいは細胞周囲に局限していた(図a)。

癌組織でも、全例の癌細胞で陽性所見が得られ、正常扁平上皮と同じく細胞膜に局在していた。しかし、正常扁平上皮のような角化部に向かう染色性の低下が必ずしもみられず、胞巣を形成する癌細胞が一様に染色される例、部分的に不均一に染色される例も多々みられた。また、染色強度についても正常扁平上皮と比較し、減弱している例、増強している例があった。EGFRの発現が正常の扁平上皮の基底細胞と同程度あるいはそれより弱いものをEGFR(+)群(図c, e)、正常の扁平上皮の基底細胞より明らかに濃く染色されたものをEGFR(++)群(図b, d, f)とした。EGFR(+)群は32例、EGFR(++)群は36例であった(表2)。

リンパ節転移の有無では、EGFR(+)群では32例中12例でリンパ節転移を伴ったが、EGFR(++)群では36例中28例でリンパ節転移を伴っており、EGFRの過剰発現している症例でリンパ節転移が多かった(χ^2 検定にて $P<0.005$)。原発巣の大きさ、角化度ではEGFRの発現と特に関係は認めなかった。

4. 考 察

EGFRは細胞表面に存在する分子量約17万の糖蛋白でerb-B1癌遺伝子と同一の遺伝子と考えられている。その過剰発現と癌の臨床的悪性度との関係について膀胱癌、乳癌、胃癌、食道癌などで報告されている。膀胱癌では表在性腫瘍に比べ浸潤性腫瘍で、また中分化型の腫瘍に比べ低分化型腫瘍でEGFRの高染色性を認めた⁴⁾。乳癌ではEGFRはエストロゲンレセプターと逆相関すること、そして、リンパ節転移のない症例においてEGFRが最も重要な予後因子であり、リンパ節転移のある症例ではリンパ節転移に次ぐ予後因子となる⁵⁾。胃癌においては癌細胞は正常胃粘膜に比べEGFそのものが有意に増加しており、進行性胃癌ではEGFR陽性例が有意に増加している⁶⁾。また、食道癌でもEGFR levelの高い群は低い群に比べ、有意に累積生存率が低下している⁷⁾。同じく食道癌(粘膜下層まで浸潤したSm癌)においてはEGFRの発現の強いものほどリンパ節転移が多く、予後不良である⁸⁾。これらの報告はすべてEGFRの過剰発現のある症例は臨床的悪性度が高いことを示すものである。一方、正常の扁

平上皮でも基底細胞と傍基底細胞にEGFRを認めることから、EGFRの発現が必ずしも腫瘍化によって獲得した形質ではなく扁平上皮の増殖能と関連した形質であることが示唆されている。さらに扁平上皮癌ではin vivoでEGFによりその増殖が調節されており、EGF-レセプター系が扁平上皮癌の増殖に重要な役割を持つという⁹⁾。

頭頸部領域ではBerglerらが口腔粘膜について検討し、正常でもEGFRが認められるのは少なくないが、飲酒喫煙習慣者や口腔癌を有する患者の粘膜では陽性となる率が高く癌化との関係を示唆している¹⁰⁾。宮口は喉頭粘膜上皮でのEGFRの発現について正常および軽度異形成では出現せず、中等度異形成で陽性細胞が散見され、高度異形成では全例に出現していることから、EGFRは喉頭癌において特異的であり癌と異形成上皮の鑑別に有用であるとしている¹¹⁾。

今回の我々の結果ではEGFRの過剰発現している症例でリンパ節転移を伴う例が有意に多かった。これは他部位での報告と同様にEGFRの過剰発現と臨床的悪性度の相関を示すものである。EGFは癌細胞の増殖を促進させる作用の他に、細胞の運動性、浸潤性を高める働きがあるとされており¹²⁾¹³⁾、EGFR過剰発現例でリンパ節転移が多いことは、癌の転移を考える上で非常に興味深い結果である。

対象とした患者の経過観察は現在も行っているが、途中経過として初診時リンパ節転移のなかった28例についてEGFR(+)群とEGFR(++)群で初回治療終了後の再発の有無をみた。その結果、EGFR(+)群では20例中1例でリンパ節転移をきたしたが、EGFR(++)群では8例中2例でリンパ節転移を、1例で局所再発を認めた。経過観察期間が多くの症例で1年前後と短く、統計学的な差も認めなかったが、EGFRが頭頸部扁平上皮癌においても予後診断などの点で有用である可能性を示唆するものと思われた。生存率についての検討は今後の課題である。

また、頭頸部腫瘍は同じ扁平上皮癌でもその原発部位により予後に差がある。今回は症例数の関係で部位別の検討は行わなかった。しかし5年生存率が良いとされる喉頭癌でEGFRの過剰発現が10例中3例(30%)だったのに比べ、口唇・口腔癌16例中9例(56%)、咽頭癌28例中17例(61%)、上顎癌12例中5例(42%)と比較的予後の悪いこれらの癌では過剰発現の割合が高い傾向も見られた。さらに症例をふやしての検討が必要と思われた。

5. ま と め

(1) 未治療の頭頸部扁平上皮癌68例の生検腫瘍組織においてEGFレセプターの発現を免疫組織学的に観察した。

(2) EGFレセプターの過剰発現を認める症例ではリンパ節転移を伴う頻度が高かった ($P<0.005$)。

(3) EGFレセプターの発現と原発巣の大きさ、角化度については特に関係を認めなかった。

(4) EGFレセプターは頭頸部扁平上皮癌において予後因子となりうる可能性があると思われ、今後の検討が待たれる。

参 考 文 献

- 1) Carpenter G, Cohen S: Epidermal growth factor. *Ann Rev Biochem* 48: 193-216, 1979.
- 2) Shimizu N, Hunts J, Merlino G et al: Amplification and rearrangement of EGF receptor gene in translocation chromosome 7(M4) of human epidermoid carcinoma A 431 cells. *Cytogenet Cell Genet* 40: 744, 1985.
- 3) Broders AC: Practical points on the microscopic grading of carcinoma. *New york J Med* 32: 667, 1932 (下里幸雄: 広戸幾一郎 他編: 臨床耳鼻咽喉科・頭頸部外科全書 8-A 頭頸部腫瘍総論. 金原出版, 東京, 1985, 53-56頁より引用)
- 4) Neal DE, Marsh C, Bennett MK et al: Epidermal-growth-factor receptors in human bladder cancer: comparison of invasive and superficial tumors. *Lancet* February 16: 366-368, 1985.
- 5) Sainsbury JRC, Farndon JR, Needham GK et al: Epidermal-growth-factor receptor status as predictor of early recurrence of and death from breast cancer. *Lancet* June 20: 1398-1402, 1987.
- 6) Yasui W, Sumiyosi H, Hata J et al: Expression of epidermal growth factor receptor in human gastric and colonic carcinoma. *Cancer Res* 48: 137-141, 1988.
- 7) Ozawa S, Ueda M, Ando N et al: Prognostic significance of epidermal growth factor receptor in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer* 63: 2169-2173, 1989.
- 8) 塩崎 均, 矢野浩司, 森 武貞: 食道癌の進展と予後. *Oncologia* 22(3): 5-9, 1989.
- 9) 上田政和, 小沢壮治, 森 光生, 清水信義, 阿部令彦: 扁平上皮癌とレセプター. *最新医学* 42: 950-955, 1987.
- 10) Bergler W, Bier H, Ganzer U: The expression of epidermal growth factor receptors in the oral mucosa with oral cancer. *Arch Otorhinolaryngol* 246: 121-125, 1989.
- 11) 宮口 衛: 予後因子としての上皮成長因子受容体. *頭頸部腫瘍* 19: 63-66, 1993.
- 12) Koyasu S, Kadowaki T, Nisida E et al: Alteration in growth, cell morphology, and cytoskeletal structures of KB cells induced by epidermal growth factor and transforming growth factor- β . *Exp cell Res* 176: 107-116, 1988.
- 13) Sundareshan P, Misiorowski RL, Davis JR et al: Effect of epidermal growth factor on growth response, morphology, and invasive potential of human endometrial carcinoma cell line RL95-2. *Cancer Comm* 3: 149-158, 1991.

(1993年4月23日受稿 1993年7月1日受理)

別刷請求先 〒980 仙台市青葉区星陵町1-1

東北大学医学部附属病院耳鼻咽喉科 大井聖幸

<div>A 96—2032—23522</div> <div>日耳鼻</div> <div>正常人におけるグリセロール内服前後の蝸電図の変化の研究 北奥恵之・成尾一彦・松永 喬 (奈良医大)</div> <div>聴力正常な15名28耳を対象にして、グリセロール内服前と内服後1, 2, 3時間で鼓室外誘導法による蝸電図検査を行った。1) AP 振幅は減少した。グリセロール内服1時間後では増大するものもあったが時間の経過とともに次第に減少し, 2, 3時間後では内服前と比べて有意差を認めた。2) SP 振幅の変化には有意差を認めなかった。3) -SP/AP は増大した。3時間後まで時間の経過とともに次第に増大し, それぞれ内服前と比べて有意差を認めた。4) 13名で左右の蝸電図検査を比較した。時間的経過に左右差を認め, 左右の反応は必ずしも一致しなかったが, 左右差は内服後3時間では小さくなり, 左右を比較検討する場合には3時間後が望ましいことがわかった。</div>	<div>A 96—2017—24511</div> <div>日耳鼻</div> <div>モルモット内耳 barotrauma における前庭器変化 石田和也・小塚 誠・福田成司・柳田則之 (名大)</div> <div>内耳気圧外傷における前庭器変化を観察するために, 急激な減圧を施行により内耳気圧外傷を惹起した。ブライエ反射消失, 自発眼振を認めたモルモットにおいて, 自発眼振は減圧時に生じ, 眼振の方向の交代性現象が観察された。またカロリックテストにて約半数に半規管機能低下が認められた。半規管低下群に正円窓破裂が多かったが半規管機能正常においても認められた。膜迷路の虚脱も認められたが半規管機能低下との関連は明らかでなかった。SEM にて半規管膨大部に一部感覚毛の乱れ, 根部よりの折れ, 消失が観察できたがその程度は軽微であった。以上より内耳気圧外傷時における前庭器変化の原因は内リンパ流動が主体ではないかと推察された。</div>
<div>A 96—2039—92341</div> <div>日耳鼻</div> <div>頭頸部扁平上皮癌における上皮成長因子受容体 (EGF レセプター) の局在について 大井聖幸・鈴木 守・小池修治・佐竹順一 松浦一登・高坂知節 (東北大)</div> <div>頭頸部扁平上皮癌未治療例68例について免疫組織学的にEGF レセプターの発現を調べた。内訳は口腔・口唇癌16例, 中咽頭癌7例, 上咽頭癌6例, 下咽頭癌15例, 喉頭癌10例, 上顎洞癌12例, その他2例である。その結果は以下のごとくである。 (1) EGF レセプターの過剰発現を認める症例ではリンパ節転移を伴う頻度が有意に高かった ($P<0.005$)。 (2) EGF レセプターの発現と原発巣の大きさ, 角化度には特に関係が認めなかった。 (3) EGF レセプターは頭頸部扁平上皮癌において予後因子となる可能性がある。</div>	<div>A 96—2024—00882</div> <div>日耳鼻</div> <div>若年女性における Schellong test の再評価 野沢 出・久松建一・霜村真一・橋本かおり 菊島一仁・今村まゆみ・今村俊一・村上嘉彦 (山梨医大)</div> <div>18歳~21歳の若年女性152名に, OD のアンケート調査及び Schellong test を施行した。 その結果, 152名中, OD の診断基準の大症状のAの【たちくらみあるいはめまいを起こしやすい】者は, 90名 (59.2%) でみられた。また, OD 群では, 39名中, Aは37名 (94.9%) に認められた。OD 群と対照群の Schellong test の比較では, 各項目でややOD 確実群の方が高い傾向が認められた。特に大症状のAが「しばしば」である OD 群10名と対照群との比較では, 収縮期低圧下において有意に差が認められた。 Schellong test は, 疾患, 年齢, 性別, 診断基準, 判定法を考慮すると簡易で有用な自律神経機能検査の一つになりうろと思われた。</div>