

学位論文

口腔扁平上皮癌におけるインテグリン α vファミリー発現
の臨床病理学的意義

学位申請者 櫻井繁

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学) 専攻

(主任：岡本哲治教授)

2016 年

謝辞

本研究に際し、御懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜りました広島大学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門分子口腔医学・顎顔面外科学（口腔外科学第一） 岡本哲治教授に深厚なる謝意を表します。また、本論文作成上、御教示、御校閲を賜りました大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門歯周病態学 栗原英見教授ならびに大学院医歯薬保健学研究院統合健康科学部門小児歯科学 香西克之教授に深謝致します。

尚、本研究を進めるに際し、終始御懇切なる御指導と御配慮を賜りました広島大学病院顎・口腔外科 林堂安貴講師に心から感謝の意を表します。さらに、多大なる御支援、御協力を頂きました本学分子口腔医学・顎顔面外科学（口腔外科学第一）教室員の各位に感謝致します。また、本研究に際し、御協力頂きました広島大学医学部附属動物実験施設関係者各位にお礼申し上げます。

目次

第1章 緒論	1
第2章 対象と方法	3
2-1 対象患者	3
2-2 免疫組織染色	3
2-3 統計学的解析	4
第3章 結果	5
3-1 各臨床病理学的因子と生存率との関連	5
3-2 インテグリン αv ファミリー発現と臨床病理学的因子との相関	6
3-2-1 インテグリン αv 発現と臨床病理学的因子	6
3-2-2 インテグリン $\beta 1$ 発現と臨床病理学的因子	6
3-2-3 インテグリン $\beta 6$ 発現と臨床病理学的因子	7
3-2-4 インテグリン $\beta 8$ 発現と臨床病理学的因子	7
3-3 Focal Adhesion Kinase (FAK) 発現と臨床病理学的因子との相関	7
3-3-1 Focal Adhesion Kinase (FAK) 発現と臨床病理学的因子	7
3-3-2 リン酸化 FAK (pFAK) 発現と臨床病理学的因子	8
第4章 考察	9
第5章 総括	13
参考文献	14
図表	

第1章 緒言

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(1-6)。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(7-11)。

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細胞膜蛋白で、これまでに18種類の α 鎖と8種類の β 鎖が報告され、24種類のヘテロ二量体を形成することが知られている(12-14)。インテグリンは細胞外基質蛋白の受容体として、細胞外ドメインが細胞外基質蛋白と結合し、細胞内ドメインはテーリン、 α -アクチニンやアクチンフィラメントなど種々の細胞骨格蛋白と結合している(15-17)。さらに、インテグリンは細胞外基質蛋白との結合により、 β 鎖の細胞内ドメインに結合した focal adhesion kinase (FAK) を活性化し、様々なシグナルを伝達することが知られている(18-22)。このように、インテグリンは細胞と細胞外基質蛋白との接着分子として機能しているだけでなく、細胞の形態や運動、さらに増殖や分化などのシグナル伝達を調節し、器官発生や組織分化においても重要な役割を担っている(23-27)。

悪性腫瘍において、様々なインテグリン分子の発現が、その浸潤・転移や予後と相関することが報告されている(8, 10, 28-30)。中でもインテグリン αv ファミリーは、悪性腫瘍の増殖や進展と密接に関連していることが知られている(31-35)。著者の所属研究室の先行研究において、インテグリン αv 高発現口腔

扁平上皮癌細胞の増殖及び浸潤能は、I型コラーゲンにより促進されることが報告されている(36).

そこで本研究では、インテグリン α_v と α_v のカウンターパートである β_1 , β_3 , β_5 , β_6 及び β_8 の発現と、口腔扁平上皮癌の進展や予後との関係を明らかにするため、広島大学病院顎・口腔外科にて外科的処置を中心に加療した口腔扁平上皮癌の試験切除組織における、インテグリン α_v と β_1 , β_3 , β_5 , β_6 及び β_8 の発現を免疫組織学的に検索し、臨床病理学的因子、TNM 分類、Stage 分類及び生存率との関連性について解析した。さらに、インテグリンを介するシグナル伝達に関与し、悪性腫瘍の増殖や予後に密接に関連している focal adhesion kinase (FAK) の、口腔扁平上皮癌組織における発現も免疫組織学的に検討し、その発現と、臨床病理学的因子及び予後との関連を解析した。

第2章 対象と方法

2-1. 対象患者

2001年1月から2013年9月までの間に、広島大学病院顎・口腔外科にて外科的処置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検討が可能であった96例を対象とした。

2-2. 免疫組織染色

10%ホルマリン固定パラフィン包埋標本より5 μ 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、抗原の賦活化のため、pH4.0の10mMクエン酸液またはpH8.0の1mM EDTAを用いて、99 $^{\circ}$ 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、1次抗体(表1)で室温、60分間、反応させた。なお、1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。

2-3. 統計学的解析

インテグリン αv 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 検定またはマン・ホイットニーのU検定で解析した．生存曲線の算出はKaplan-Meier法で行い，インテグリン αv 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．すべての統計解析には，R及びRコマンドーの機能を拡張した統計ソフトウェアであるEZRを使用した．

第3章 結果

3-1 各臨床病理学的因子と生存率との関連

対象症例 96 例中，男性 56 名，女性 40 名で平均年齢は 66 才であった。発症部位別では，口底癌 10 例，上顎歯肉癌 15 例，下顎歯肉癌 36 例，頬粘膜癌 4 例，舌癌 31 例で，組織分化度別では，高分化 51 例，中等度分化 36 例，低分化 9 例であった。T 分類別では，T1 が 11 例，T2 が 42 例，T3 が 15 例，T4 が 28 例であり，N 分類別では，N0 が 51 例，N1 が 17 例，N2 が 28 例，N3 症例は 0 症例で，45 例に頸部リンパ節転移がみられた。なお，96 症例すべて M0 であった。Stage 分類では，Stage I が 10 名，Stage II が 31 名，Stage III が 16 名，Stage IV が 39 名であった（表 2）。

T1及びT2を合わせた53例の10年生存率は88.5%であったが，T3及びT4 43例の10年生存率は64.5%と，T1及びT2群の生存率に対し有意に低下していた（図 1）。

リンパ節非転移群 51 例の 10 年生存率は 87.9%であったのに対し，リンパ節転移群 45 例では 65.2%と有意に低下していた（図 2）。

Stage 分類と生存率との関連性を検討した結果，Stage I 及び Stage II 41 例の 10 年生存率は 92.7%であったが，Stage III 及び IV 55 例の 10 年生存率は 66.0%と低値を示し二群間に有意な差が認められた（図 3）。

扁平上皮癌の組織分化度と生存率の関連においては，低分化，中等度分化及び高度分化間のそれぞれの生存率には統計学的に有意な差は認められなかった（図 4）。また性差，年齢及び発症部位別の生存率においても，統計学的に有意差は存在しなかった（表 3）。

3-2. インテグリン αv ファミリー発現と臨床病理学的因子との相関

3-2-1. インテグリン αv 発現と臨床病理学的因子

口腔扁平上皮癌におけるインテグリン αv (αv) の発現を免疫組織学的に検討した結果、口腔扁平上皮癌細胞の細胞膜と細胞質にインテグリン αv の発現が認められた (図 5)

αv は 96 症例中 55 症例に発現が認められた。 αv 陰性群 41 例と陽性群 55 例の生存率を Kaplan-Meier 法で解析した結果、陰性群と陽性群の 10 年生存率は、それぞれ 87.4% と 71.1% で、 αv 陽性群の生存率は陰性群のそれに比べて低下していたが p 値は 0.101 と二群間の生存率に統計学的には有意差は認められなかった (図 6) 。 αv 発現と、それぞれ T 分類、 N 分類、 及び Stage 分類との間の相関を検討したが、いずれとも相関は認められなかった。 また、 αv 発現と性別、 年齢、 発症部位、 及び組織分化度とも相関は認められなかった (表 4)。

3-2-2. インテグリン $\beta 1$ 発現と臨床病理学的因子

インテグリン $\beta 1$ ($\beta 1$) は、口腔扁平上皮癌細胞の細胞膜と細胞質に発現が認められた (図 7) 。

$\beta 1$ は 96 症例中 32 症例に発現が認められた。 $\beta 1$ 陰性群 64 例及び陽性群 32 例の 10 年生存率はそれぞれ 83.5% 及び 67.5% で、 $\beta 1$ 陽性群は陰性群に比べて予後不良の傾向を示したが、 p 値は 0.0765 で統計学的に有意な差はみられなかった (図 8) 。 さらに、 $\beta 1$ 発現と、 T 分類、 N 分類または Stage 分類のいずれとも、相関性は認められなかった (表 5)。

3-2-3. インテグリン $\beta 6$ 発現と臨床病理学的因子

インテグリン $\beta 6$ ($\beta 6$) の口腔扁平上皮癌における発現を免疫組織学的に検討した結果, $\beta 6$ は, 口腔扁平上皮癌細胞の細胞膜と細胞質に発現していた (図 9). 96 症例中 57 症例に $\beta 6$ の発現が認められた. $\beta 6$ 陰性群 39 例と陽性群 57 例の 10 年生存率はそれぞれ 86.0% 及び 71.3% で, 陽性群では陰性群と比較して有意に生存率が低下していた (図 10). しかし, $\beta 6$ 発現と, T 分類, N 分類, 及び Stage 分類のいずれとも相関性は認められなかった. また, 性別, 年齢, 発症部位及び組織分化度とも関連は認められなかった (表 6).

3-2-4. インテグリン $\beta 8$ 発現と臨床病理学的因子

インテグリン $\beta 8$ は, 口腔扁平上皮癌細胞の細胞膜と細胞質に発現が認められた (図 11). $\beta 8$ は 96 例中, 陰性が 42 例, 陽性が 54 例で, 陰性群と陽性群の 10 年生存率は, それぞれ 81.1%, 75.2% で, p 値は 0.378 と二群間の生存率に統計学的に有意差はみられなかった (図 12). 一方, $\beta 8$ 発現と N 分類間に統計学的に有意な相関を認めた ($p=0.0107$). しかし, $\beta 8$ 発現と, T 分類, Stage 分類, 性別, 年齢, 発症部位, 組織学的分化度間には相関性はなかった (表 7).

なお, インテグリン $\beta 3$ と $\beta 5$ は, いずれの症例においても染色性を示さなかった (データ非提示).

3-3. Focal Adhesion Kinase (FAK) 発現と臨床病理学的因子との相関

3-3-1. Focal Adhesion Kinase (FAK) 発現と臨床病理学的因子

インテグリンを介する MAP キナーゼカスケード等のシグナル伝達に関与し, 悪性腫瘍の増殖や予後に密接に関連していることが知られている非レセプター型チロシンキナーゼの一つである focal adhesion kinase (FAK) の口腔扁平上皮

癌での発現を検討した。FAK は、口腔扁平上皮癌細胞の細胞膜と細胞質に発現がみられ (図 13), 96 症例中, FAK 陰性は 31 例, 陽性は 65 例で, 陰性群の 10 年生存率は 86.2%, 陽性群のそれは 74.0%で, 二群間には統計学的に有意差は認められなかった (図 14) . さらに FAK 発現と, T 分類, N 分類, Stage 分類, 性別, 年齢, 発症部位及び組織分化度のいずれとも関連性は認められなかった (表 8).

3-3-2. リン酸化 FAK (pFAK) 発現と臨床病理学的因子

インテグリンを介して細胞が細胞外マトリックスに結合すると, FAK の自己リン酸化 (397 番目のチロシンのリン酸化) が生じ, この領域に Src family kinases (SFK) が結合することで続いて, FAK の 397 番目のチロシン以外のチロシン残基がリン酸化される. さらに, p130Cas, Shc, paxillin, tensin などのドッキング蛋白質やアダプター蛋白質のチロシンリン酸化が 2 次的に誘導され, PI3K から Akt に至る経路や, Grb2/Sos/Ras から MAPK に至る経路が活性化され, 細胞増殖や運動能が促進されることが知られている (22, 37-39).

そこで, 口腔扁平上皮癌の進展における活性化 FAK, すなわちリン酸化 FAK の関与について明らかにするために, pFAK の発現について免疫組織学的に検討した. その結果, pFAK は主に口腔扁平上皮癌細胞の細胞質に発現していた (図 15). 96 症例中, 陰性が 39 例, 陽性が 57 例で, 陰性群の 10 年生存率は 91.7 %であったのに対し, 陽性群のそれは 68.6%で, p 値は 0.0107 と統計学的に有意差を認めた (図 16). 一方, pFAK と, T 分類, N 分類, Stage 分類, 性別, 年齢, 発症部位及び組織分化度のいずれとも相関は認められなかった (表 9).

第4章 考察

インテグリンは α 鎖と β 鎖の2つの膜貫通型サブユニットからなるヘテロ二量体の細胞膜蛋白で、細胞外基質蛋白の受容体として細胞外基質への細胞の接着を調節するほか、細胞の増殖、分化や運動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(12-14)。また、インテグリンは器官発生や組織分化のみならず、がん化やがん細胞の運動や蛋白分解酵素産生の調節因子として、がん浸潤や転移においても重要な役割を担っている(40-42)。

特に、インテグリン α_v ファミリーは、悪性腫瘍の増殖や進展と密接に関連していることが知られている。たとえば、インテグリン $\alpha_v\beta_3$ は、がん細胞の運動促進因子として作用するだけでなく、活性型マトリックスメタロプロテアーゼ 2 の細胞膜上の受容体としてがん細胞膜上の蛋白分解活性を制御していることが明らかにされている(43)。著者の所属する研究室の先行研究においても、インテグリン α_v が活性型マトリックスメタロプロテアーゼ 2 (MMP-2) の細胞膜上の受容体であることや、I型コラーゲンがインテグリン α_v を介して口腔扁平上皮癌細胞の FAK や MEK/ERK を活性化し、増殖能を亢進させていることを明らかにし、インテグリン α_v が口腔扁平上皮癌の進展においても重要な役割を担っていることを明らかにしている(36, 44)。

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の試験切除組織における、インテグリン α_v と α_v のカウンターパートであるインテグリン β_1 , β_3 , β_5 , β_6 及び β_8 の発現を免疫組織学的に検討し、臨床病理学的因子、TNM 分類、Stage 分類及び生存率との関連性について統計学的に解析・検討した。さらにインテグリンを介するシグナル伝達に関与し、悪性腫瘍の増殖や予後に密接に関連している focal adhesion kinase (FAK) 及び pFAK の口腔

扁平上皮癌組織における発現も免疫組織学的に検討し、臨床病理学的因子と予後との関連を解析した。

まず、口腔扁平上皮癌の各臨床病理学的因子と生存率との関係を検討した。今回、検討した 96 症例では、性差、年齢、発症部位及び組織分化度と、生存率との間には統計学的に相関性は認めなかった。腫瘍進展度評価に用いられている TNM 分類の各因子と生存率の関連を検討した。原発腫瘍の拡がりを表す T 分類、所属リンパ節転移を表す N 分類や、T 分類、N 分類及び M 分類から判定される臨床進行期分類である Stage 分類とは口腔扁平上皮癌の生存率の間には強い正の相関性が存在した。すなわち、各分類において進展度が増すにつれ、生存率の低下が認められた。

インテグリン αv , $\beta 1$, $\beta 3$, $\beta 5$, $\beta 6$ 及び $\beta 8$ の口腔扁平上皮癌細胞における発現を検討した。その結果、インテグリン αv , $\beta 1$, $\beta 6$ 及び $\beta 8$ の発現を認めたが、インテグリン $\beta 3$ 及び $\beta 5$ の発現は、今回検討した 96 例のいずれにおいても検出出来なかった。

インテグリン αv , $\beta 1$, $\beta 6$ 及び $\beta 8$ の発現と、性別、年齢、T 分類や Stage 分類、さらに組織分化度とは統計学的に相関性は認められなかった。

インテグリン αv あるいは $\beta 1$ 発現陽性口腔扁平上皮癌では、 αv あるいは $\beta 1$ 陰性群に比べ生存率が低下していたが、統計学的に有意差がみられなかった。

一方、インテグリン $\beta 6$ 陽性の口腔扁平上皮癌の生存率は、陰性群のそれと比べ有意に低下していたことから、インテグリン $\beta 6$ は口腔扁平上皮癌の有用な予後予測因子であることが明らかとなった。

さらに、インテグリン $\beta 8$ 発現は、口腔扁平上皮癌の生存率とは相関性を示さなかったが、 $\beta 8$ 陽性群における所属リンパ節への転移は、陰性群のそれと比べ有意に高く、口腔扁平上皮癌のリンパ節転移予測因子であると考えられた。

インテグリンは、細胞外ドメインでラミニンやフィブロネクチンなどの細胞外基質蛋白と結合するが、細胞内ドメインは様々なシグナル伝達因子やアクチン結合蛋白と直接あるいは間接的に結合していることが知られている(15-17)。インテグリン自身はキナーゼ活性を有していないが、インテグリンを介して細胞が細胞外基質蛋白と結合することで、インテグリンの細胞内ドメイン結合蛋白である FAK (focal adhesion kinase) 等が活性化され、細胞増殖を制御する mitogen-activated protein (MAP) キナーゼの活性化、細胞生存を制御する PI3-キナーゼ-Akt 経路の活性化、さらに細胞内骨格系の再編成を制御し細胞運動能を調節する Rho ファミリー低分子 G タンパク質の活性化を引き起こすことが知られている(18-22, 45)。

これまでに著者の所属する研究室の先行研究において、 αv の低発現細胞である口腔扁平上皮癌細胞株 SCCKN 細胞に αv 遺伝子を導入して樹立したインテグリン αv 高発現口腔扁平上皮癌細胞 (KN αv) を I 型コラーゲン上で培養すると、親株の SCCKN 及び KNmock に比べ、FAK, MEK 及び ERK1/2 のリン酸化が速やかに誘導されることを明らかにし、 αv の発現亢進が、扁平上皮癌細胞の FAK のリン酸化に続き、MAP キナーゼカスケードの活性化を誘導することを報告している(36)。

今回の結果から、インテグリン αv のカウンターパートである $\beta 6$ 及び $\beta 8$ が、それぞれ生存率及び頸部リンパ節転移と深く関与していることが明らかになったため、インテグリン $\beta 6$ または $\beta 8$ から FAK を介するシグナル伝達が、生体での口腔扁平上皮癌の進展にも何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。そこで、口腔扁平上皮癌組織での FAK と pFAK の発現を免疫組織学的に検討した。その結果、FAK 発現と、各臨床病理学的因子、予後、性別、年齢、及び発症部位との関連性は認めなかった。一方、pFAK の発現は、FAK 同様に組織分化度、T 分類、N 分類、Stage 分類、性別、年齢、発症部位とは相関性はみら

れなかったが、pFAK 発現陽性症例の生存率は陰性群のそれに比較して有意に低下していた。したがって、 $\beta 6$ や $\beta 8$ に加えて pFAK も口腔扁平上皮癌の重要な予後予測因子となりうる可能性が示唆された。

これまでの研究結果より、インテグリン $\beta 6$ 及び pFAK 発現陽性症例では、10年生存率が有意に低下していたこと、さらに $\beta 8$ 発現陽性症例では頸部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 $\beta 6$ 、 $\beta 8$ 及び pFAK が、担がん生体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、 $\beta 6$ 及び pFAK は口腔扁平上皮癌の予後予測因子として、また $\beta 8$ は所属リンパ節転移予測因子としての有用性が示された。今後、これら分子を標的とした口腔癌の新規診断及び治療法の開発の可能性が考えられた。

第5章 総括

インテグリン αv ファミリーの臨床病理学的因子及び予後との関連性を明らかにするため、口腔扁平上皮癌におけるインテグリン αv , $\beta 1$, $\beta 3$, $\beta 5$, $\beta 6$ 及び $\beta 8$ の発現, さらにインテグリンのシグナル伝達に関与している FAK 及び pFAK の発現を免疫組織学的に検討し, 以下の結果を得た (表 10).

1. インテグリン αv , $\beta 1$, $\beta 6$ 及び $\beta 8$ は口腔扁平上皮癌細胞で発現していたが, $\beta 3$ 及び $\beta 5$ は発現していなかった.
2. インテグリン $\beta 6$ 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 $\beta 6$ 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 $\beta 8$ 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 $\beta 8$ 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.

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.

参考文献

1. Mahadevan, D., and Von Hoff, D.D. (2007) Tumor-stroma interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Cancer Ther* **6**, 1186-1197
2. Ingber, D. E. (2002) Cancer as a disease of epithelial-mesenchymal interactions and extracellular matrix regulation. *Differentiation*. **70**, 547-560.
3. Shekhar, M. P.V., Pauley, R., and Heppner, G. (2003) Host microenvironment in breast cancer development: extracellular matrix-stromal cell contribution to neoplastic phenotype of epithelial cells in the breast. *Breast Cancer Res*. **5**, 130-135.
4. Chrenek, M. A., Wong, P., and Weaver, V. M. (2001) Tumour-stromal interactions. Integrins and cell adhesions as modulators of mammary cell survival and transformation. *Breast Cancer Res* **3**, 224-229
5. Bosman, F. T., de Bruine, A., Flohil, C., van der Wurff, A., ten Kate, J., and Dinjens, W. W. (1993) Epithelial-stromal interactions in colon cancer. *Int J Dev Biol* **37**, 203-211
6. He, Y., Liu, X. D., Chen, Z. Y., Zhu, J., Xiong, Y., Li, K., Dong, J. H., and Li, X. (2007) Interaction between cancer cells and stromal fibroblasts is required for activation of the uPAR-uPA-MMP-2 cascade in pancreatic cancer metastasis. *Clin Cancer Res*. **13**, 3115-3124.
7. Albelda, S. M., Mette, S. A., Elder, D. E., Stewart, R., Damjanovich, L., Herlyn, M., and Buck, C. A. (1990) Integrin distribution in malignant melanoma: association of the beta 3 subunit with tumor progression. *Cancer Res* **50**, 6757-6764
8. Varner, J. A., and Cheresch, D. A. (1996) Integrins and cancer. *Curr Opin Cell Biol* **8**, 724-730
9. Bair, E. L., Massey, C. P., Tran, N. L., Borchers, A. H., Heimark, R. L., Cress, A. E., and Bowden, G. T. (2001) Integrin- and cadherin-mediated induction of the matrix metalloprotease matrilysin in cocultures of malignant oral squamous cell carcinoma cells and dermal fibroblasts. *Exp Cell Res* **270**, 259-267
10. Berry, M. G., Gui, G. P., Wells, C. A., and Carpenter, R. (2004) Integrin expression and survival in human breast cancer. *Eur J Surg Oncol* **30**, 484-489

11. Sheppard, D. (2005) Integrin-mediated activation of latent transforming growth factor beta. *Cancer Metastasis Rev* **24**, 395-402
12. Takada, Y., Ye, X., and Simon, S. (2007) The integrins. *Genome Biol* **8**, 215
13. Barczyk, M., Carracedo, S., and Gullberg, D. (2010) Integrins. *Cell Tissue Res* **339**, 269-280
14. Fu, G., Wang, W., and Luo, B. H. (2012) Overview: structural biology of integrins. *Methods Mol Biol* **757**, 81-99
15. Critchley, D. R., Holt, M. R., Barry, S. T., Priddle, H., Hemmings, L., and Norman, J. (1999) Integrin-mediated cell adhesion: the cytoskeletal connection. *Biochem Soc Symp* **65**, 79-99
16. Calderwood, D. A., Shattil, S. J., and Ginsberg, M. H. (2000) Integrins and actin filaments: reciprocal regulation of cell adhesion and signaling. *J Biol Chem* **275**, 22607-22610
17. Ziegler, W. H., Gingras, A. R., Critchley, D. R., and Emsley, J. (2008) Integrin connections to the cytoskeleton through talin and vinculin. *Biochem Soc Trans* **36**, 235-239
18. Guan, J. L. (1997) Focal adhesion kinase in integrin signaling. *Matrix Biol* **16**, 195-200
19. Cary, L. A., Han, D. C., and Guan, J. L. (1999) Integrin-mediated signal transduction pathways. *Histol Histopathol* **14**, 1001-1009
20. Mitra, S. K., and Schlaepfer, D. D. (2006) Integrin-regulated FAK-Src signaling in normal and cancer cells. *Curr Opin Cell Biol* **18**, 516-523
21. Hehlhans, S., Haase, M., and Cordes, N. (2007) Signalling via integrins: implications for cell survival and anticancer strategies. *Biochim Biophys Acta* **1775**, 163-180
22. Wang, S., and Basson, M. D. (2009) Integrin-linked kinase: a multi-functional regulator modulating extracellular pressure-stimulated cancer cell adhesion through focal adhesion kinase and AKT. *Cell Oncol* **31**, 273-289
23. Aplin, A. E., Howe, A. K., and Juliano, R. L. (1999) Cell adhesion molecules, signal transduction and cell growth. *Curr Opin Cell Biol* **11**, 737-744
24. Darribere, T., Skalski, M., Cousin, H. L., Gaultier, A., Montmory, C., and Alfandari, D. (2000) Integrins: regulators of embryogenesis. *Biol Cell* **92**, 5-25

25. Bokel, C., and Brown, N. H. (2002) Integrins in development: moving on, responding to, and sticking to the extracellular matrix. *Dev Cell* **3**, 311-321
26. Juliano, R. L., Reddig, P., Alahari, S., Edin, M., Howe, A., and Aplin, A. (2004) Integrin regulation of cell signalling and motility. *Biochem Soc Trans* **32**, 443-446
27. Raymond, K., Faraldo, M. M., Deugnier, M. A., and Glukhova, M. A. (2012) Integrins in mammary development. *Semin Cell Dev Biol* **23**, 599-605
28. Mizejewski, G. J. (1999) Role of integrins in cancer: survey of expression patterns. *Proc Soc Exp Biol Med* **222**, 124-138
29. Zhang, P. F., Zeng, G. Q., Yi, L. Z., Liu, J. P., Wan, X. X., Qu, J. Q., Li, J. H., Li, C., Tang, C. E., Hu, R., Ye, X., Chen, Y., Chen, Z. C., and Xiao, Z. Q. (2013) Identification of integrin beta1 as a prognostic biomarker for human lung adenocarcinoma using 2D-LC-MS/MS combined with iTRAQ technology. *Oncol Rep* **30**, 341-349
30. Vay, C., Hosch, S. B., Stoecklein, N. H., Klein, C. A., Vallbohmer, D., Link, B. C., Yekebas, E. F., Izbicki, J. R., Knoefel, W. T., and Scheunemann, P. (2014) Integrin expression in esophageal squamous cell carcinoma: loss of the physiological integrin expression pattern correlates with disease progression. *PLoS One*. **9**, e109026. doi: 109010.101371/journal.pone.0109026. eCollection 0102014.
31. Hughes, D. E., Rebello, G., and al-Nafussi, A. (1994) Integrin expression in squamous neoplasia of the cervix. *J Pathol* **173**, 97-104
32. Natali, P. G., Hamby, C. V., Felding-Habermann, B., Liang, B., Nicotra, M. R., Di Filippo, F., Giannarelli, D., Temponi, M., and Ferrone, S. (1997) Clinical significance of alpha(v)beta3 integrin and intercellular adhesion molecule-1 expression in cutaneous malignant melanoma lesions. *Cancer Res* **57**, 1554-1560
33. Koistinen, P., Ahonen, M., Kahari, V. M., and Heino, J. (2004) alphaV integrin promotes in vitro and in vivo survival of cells in metastatic melanoma. *Int J Cancer* **112**, 61-70
34. Lu, J. G., Sun, Y. N., Wang, C., Jin, D. J., and Liu, M. (2009) Role of the alpha v-integrin subunit in cell proliferation, apoptosis and tumor metastasis of laryngeal and hypopharyngeal squamous cell carcinomas: a clinical and in vitro investigation. *Eur Arch*

- Otorhinolaryngol.* **266**, 89–96. doi: 10.1007/s00405-00008-00675-z. Epub 02008 Apr 00422.
35. Dingemans, A. M., van den Boogaart, V., Vosse, B. A., van Suylen, R. J., Griffioen, A. W., and Thijssen, V. L. (2010) Integrin expression profiling identifies integrin alpha5 and beta1 as prognostic factors in early stage non-small cell lung cancer. *Mol Cancer* **9**, 152
 36. Hayashido, Y., Kitano, H., Sakae, T., Fujii, T., Suematsu, M., Sakurai, S., and Okamoto, T. (2014) Overexpression of integrin alphav facilitates proliferation and invasion of oral squamous cell carcinoma cells via MEK/ERK signaling pathway that is activated by interaction of integrin alphavbeta8 with type collagen. *Int J Oncol.* **45**, 1875–1882. doi: 1810.3892/ijo.2014.2642. Epub 2014 Sep 1874.
 37. Guan, J. L. (1997) Role of focal adhesion kinase in integrin signaling. *Int J Biochem Cell Biol* **29**, 1085–1096
 38. Natarajan, M., Hecker, T. P., and Gladson, C. L. (2003) FAK signaling in anaplastic astrocytoma and glioblastoma tumors. *Cancer J* **9**, 126–133
 39. Thamilselvan, V., Craig, D. H., and Basson, M. D. (2007) FAK association with multiple signal proteins mediates pressure-induced colon cancer cell adhesion via a Src-dependent PI3K/Akt pathway. *FASEB J* **21**, 1730–1741
 40. Even-Ram, S. C., Maoz, M., Pokroy, E., Reich, R., Katz, B. Z., Gutwein, P., Altevogt, P., and Bar-Shavit, R. (2001) Tumor cell invasion is promoted by activation of protease activated receptor-1 in cooperation with the alpha vbeta 5 integrin. *J Biol Chem* **276**, 10952–10962
 41. Samanna, V., Wei, H., Ego-Osuala, D., and Chellaiah, M. A. (2006) Alpha-V-dependent outside-in signaling is required for the regulation of CD44 surface expression, MMP-2 secretion, and cell migration by osteopontin in human melanoma cells. *Exp Cell Res* **312**, 2214–2230
 42. Fornaro, M., Manes, T., and Languino, L. R. (2001) Integrins and prostate cancer metastases. *Cancer Metastasis Rev* **20**, 321–331
 43. Brooks, P. C., Stromblad, S., Sanders, L. C., von Schalscha, T. L., Aimes, R. T., Stetler-Stevenson, W. G., Quigley, J. P., and Cheresch, D. A. (1996) Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3. *Cell* **85**, 683–693

44. Hayashido, Y., Urabe, K., Yoshioka, Y., Kitano, H., Okamoto, T., and Matsuya, T. (2003) Participation of fibroblasts in MMP-2 binding and activation on the surface of oral squamous cell carcinoma cells. *Int J Oncol* **22**, 657-662
45. Parsons, J. T., Martin, K. H., Slack, J. K., Taylor, J. M., and Weed, S. A. (2000) Focal adhesion kinase: a regulator of focal adhesion dynamics and cell movement. *Oncogene* **19**, 5606-5613

表 1 一次抗体

抗原		宿主	希釈倍率	賦活化
αv	SC-6617R (Santa Cruz)	Rabbit	1:100	Citrate
$\beta 1$	#9699 (Cell Signaling Technology)	Rabbit	1:400	Citrate
$\beta 3$	#13166 (Cell Signaling Technology)	Rabbit	1:500	Citrate
$\beta 5$	SC-14010 (Santa Cruz)	Rabbit	1:200	Citrate
$\beta 6$	19695-1-AP (Proteintech)	Rabbit	1:200	none
$\beta 8$	ab-80673 (Abcam)	Rabbit	1:1000	none
FAK	SC-558 (Santa Cruz)	Rabbit	1:100	EDTA
pFAK	bs-3159 (Bioss)	Rabbit	1:300	none

表 2 対象症例 96 例

性別	男性	56
	女性	40
年齢	65未満	32
	65以上	92
部位	口底	10
	上歯肉	15
	下歯肉	36
	頬粘膜	4
	舌	31
分化度	高分化	51
	中等度	36
	低分化	9
T	1	11
	2	42
	3	15
	4	28
N	-	51
	+	45
Stage	I	10
	II	31
	III	16
	IV	39
予後	生存	76
	原病死	20

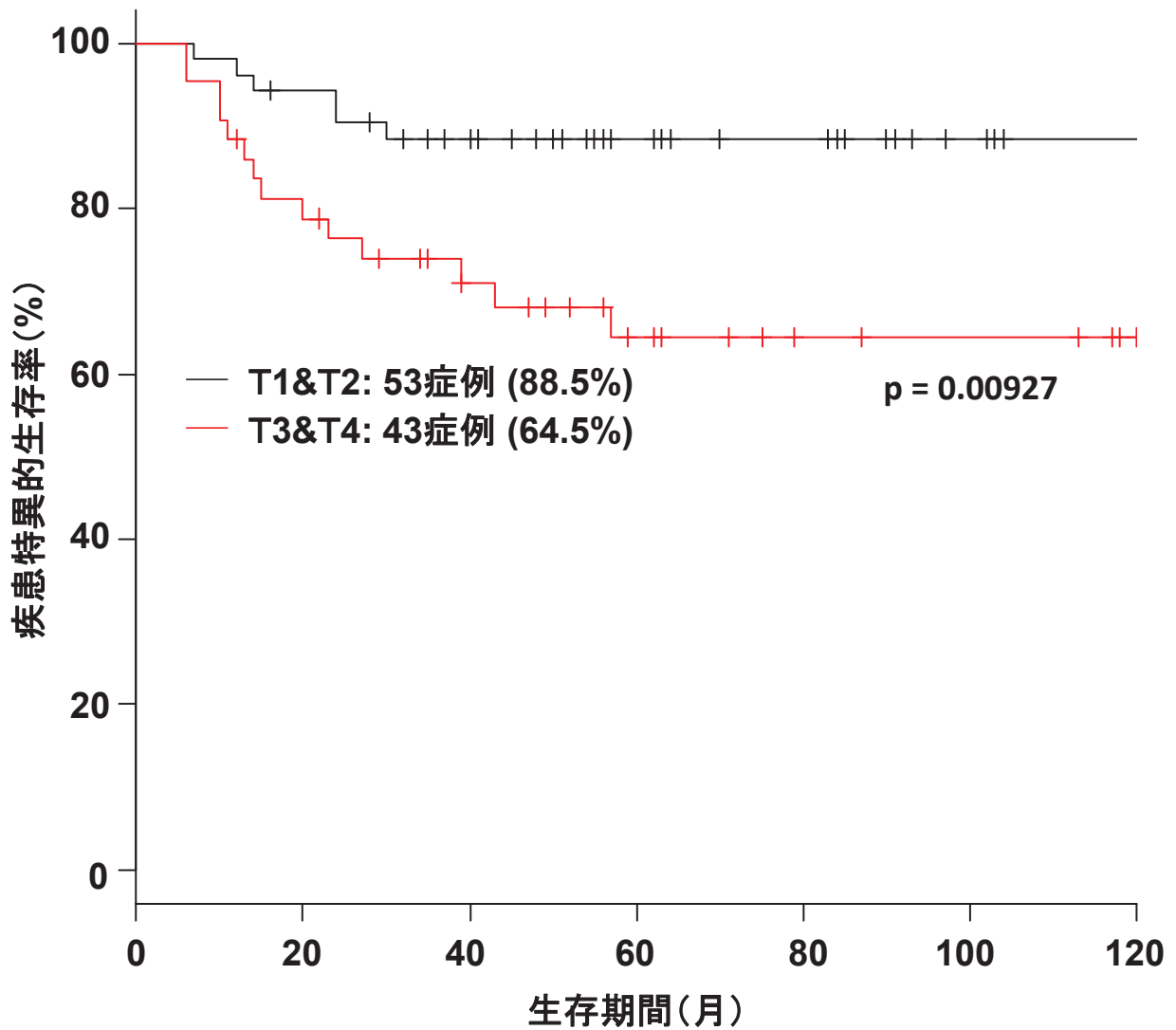


図1 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者のT分類別生存曲線
 T1 及び T2 53 症例, T3 及び T4 43 症例の二群に分類し検討した. () 内は5年生存率で, 二群間の比較はLogrank 検定にて行った.

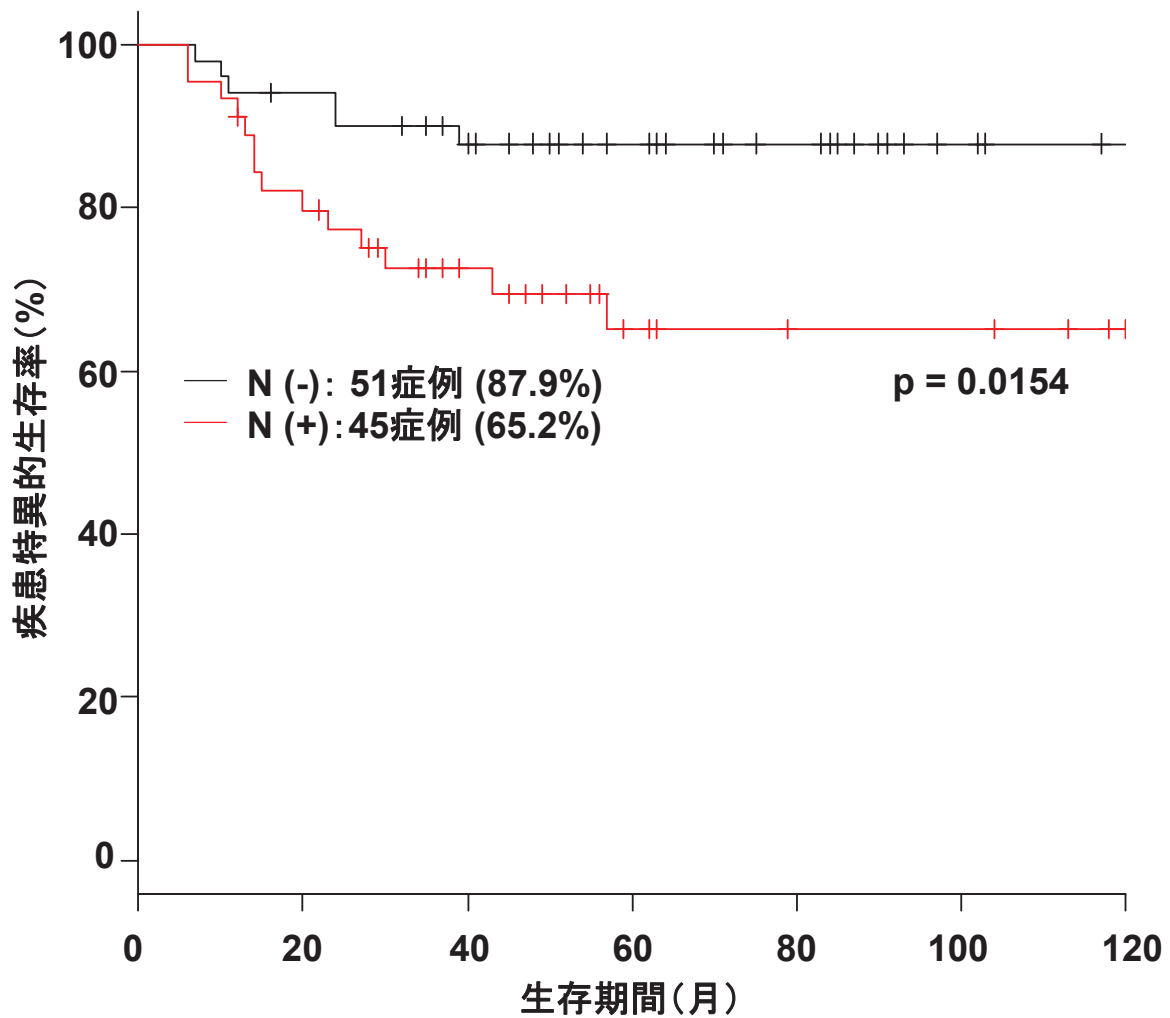


図2 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者のN分類別生存曲線
 リンパ節転移陰性群N(-) 51症例，リンパ節転移陽性群N(+) 45症例の二群に分類し検討した。()内は5年生存率で，二群間の比較はLogrank検定にて行った。

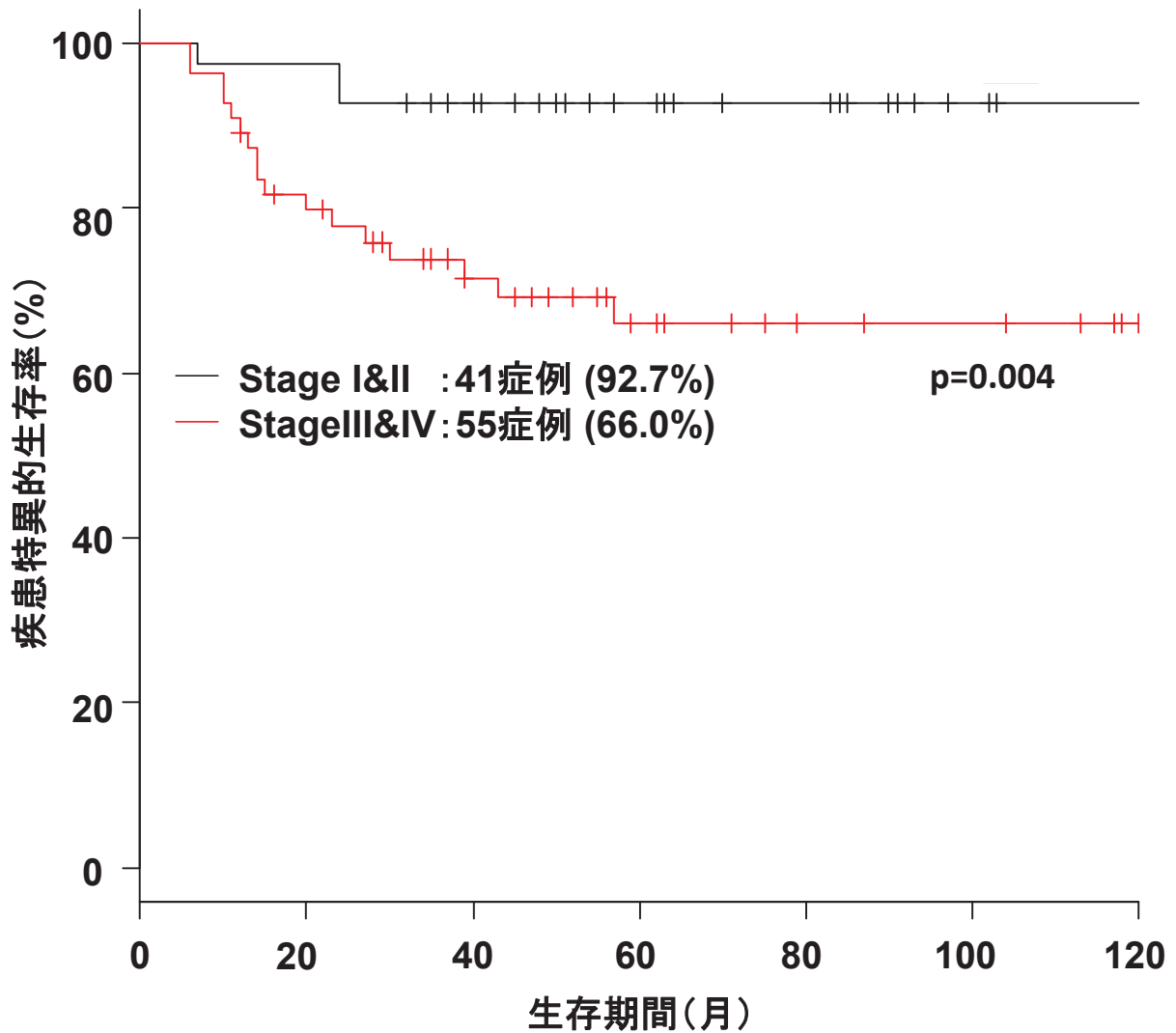


図3 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者の Stage 分類別生存曲線
 Stage I 及び II 41 症例, Stage III 及び IV 55 症例の二群に分類し検討した. ()
 内は 5 年生存率で, 二群間の比較は Logrank 検定にて行った.

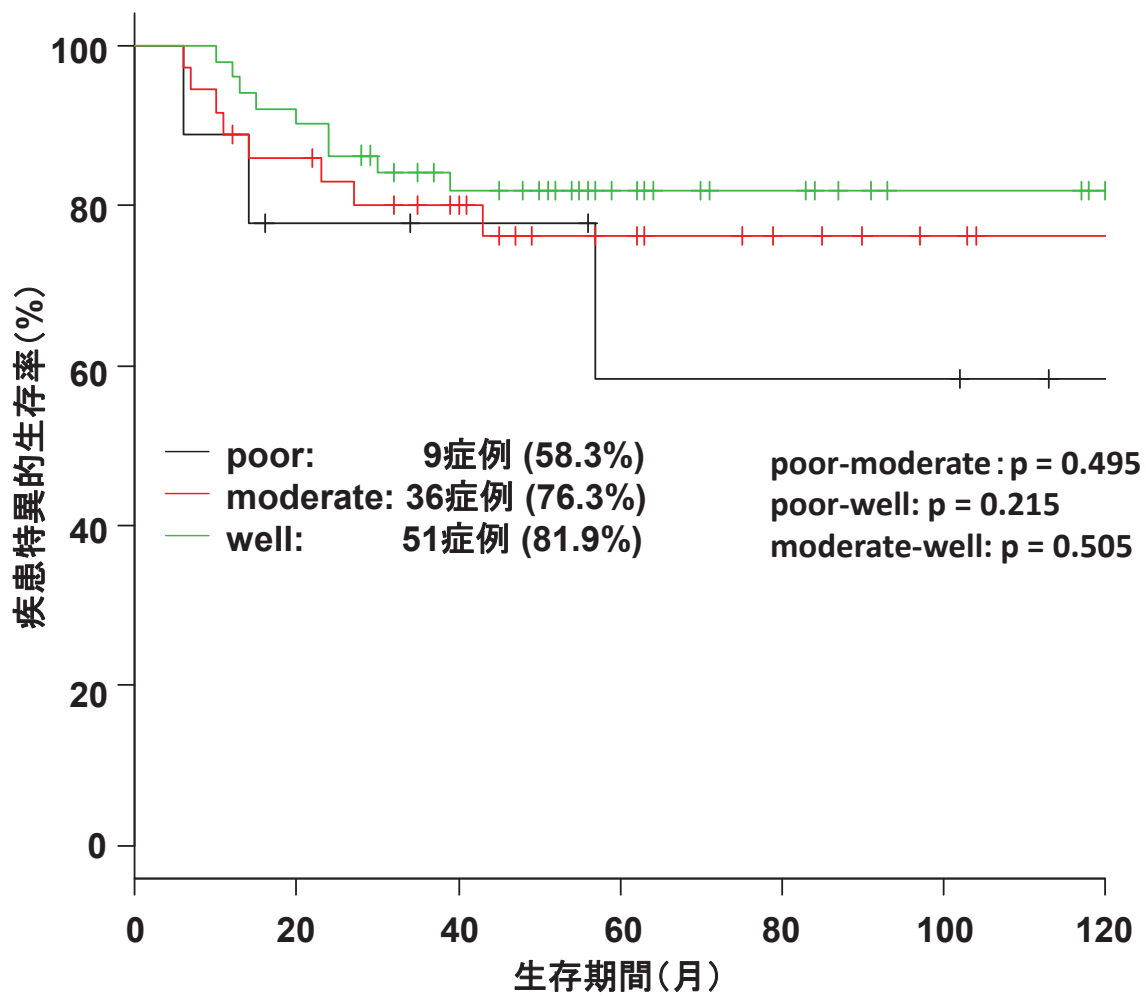


図4 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者の組織分化度別生存曲線
 低分化9症例，中等度分化36症例，高分化51症例の三群に分類し検討した。
 () 内は5年生存率で，各群間の比較はLogrank 検定にて行った。

表 3 臨床病理学的因子と予後との関連

		生存	原病死	p 値
性別	男性	43	13	0.497 ⁽¹⁾
	女性	33	7	
年齢	65未満	36	9	0.85 ⁽¹⁾
	65以上	40	11	
部位	口底	6	4	0.132 ⁽²⁾
	上歯肉	10	5	
	下歯肉	28	8	
	頬粘膜	4	0	
	舌	28	3	
分化度	高分化	42	9	0.546 ⁽²⁾
	中等度	28	8	
	低分化	6	3	
T	1 & 2	47	6	0.00927 ⁽¹⁾
	3 & 4	29	14	
N	-	45	6	0.0154 ⁽¹⁾
	+	31	14	
Stage	I&II	38	3	0.004 ⁽¹⁾
	III&IV	38	17	

⁽¹⁾ : Logrank 検定

⁽²⁾ : χ^2 検定

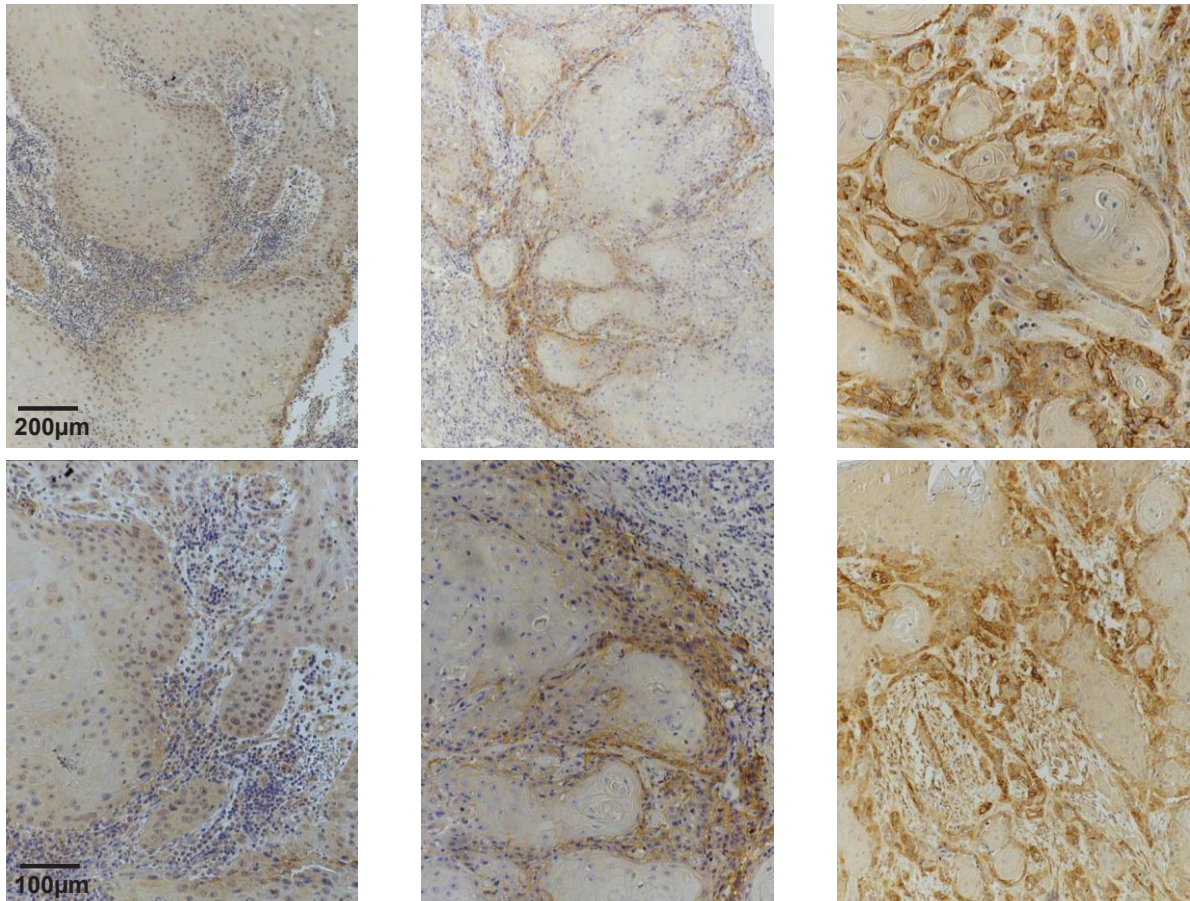


図5 口腔扁平上皮癌組織での αv 発現

まったく染色されなかったもの(左), 弱染色(中), 強染色(右)の三群に分け, まったく染色されなかったものを陰性, 弱染色及び強染色を陽性と判定した.

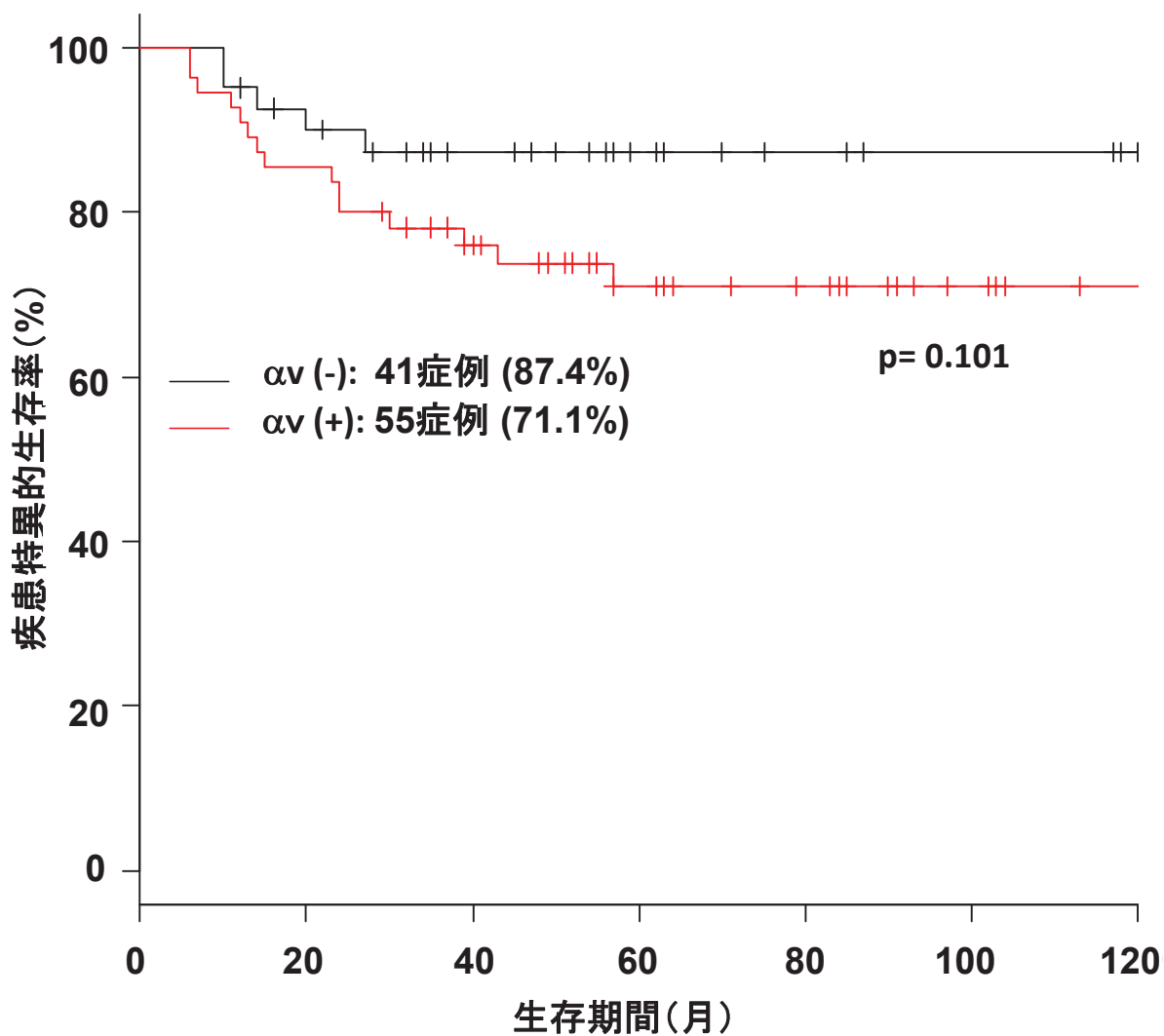


図6 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者のインテグリン αv 発現別生存曲線
 αv 発現陰性 (-) 41 症例と陽性 (+) 55 症例 の二群に分類し検討した. () 内は 5
 年生存率で, 二群間の比較は Logrank 検定にて行った.

表 4 インテグリン αv 発現と臨床病理学的因子

		αv		<i>p</i> 値
		(-)	(+)	
性別	男性	24	32	0.972 ⁽¹⁾
	女性	17	23	
年齢	65未満	19	26	0.928 ⁽¹⁾
	65以上	22	29	
部位	口底	6	4	0.584 ⁽¹⁾
	上歯肉	8	7	
	下歯肉	13	23	
	頬粘膜	2	2	
	舌	12	19	
分化度	高分化	25	26	0.164 ⁽¹⁾
	中等度	11	25	
	低分化	5	4	
T	1	4	7	0.175 ⁽²⁾
	2	14	28	
	3	10	5	
	4	13	15	
N	-	19	32	0.346 ⁽¹⁾
	+	22	23	
Stage	I	3	7	0.0799 ⁽²⁾
	II	10	21	
	III	8	8	
	IV	20	19	
予後	生存	36	40	0.101 ⁽³⁾
	原病死	5	15	

(1) : χ^2 検定

(2) : Mann-Whitney U 検定

(3) : Logrank 検定

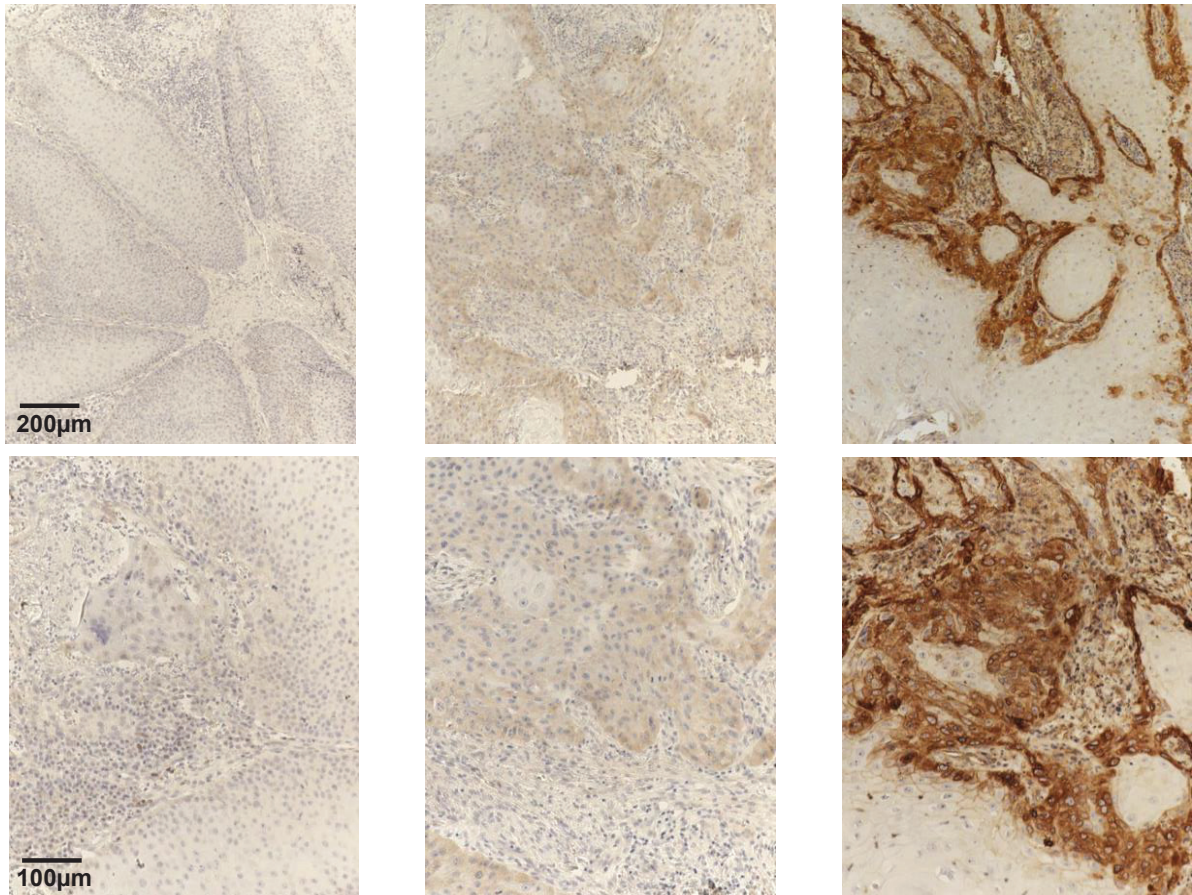


図7 口腔扁平上皮癌組織での $\beta 1$ 発現

まったく染色されなかったもの(左), 弱染色(中), 強染色(右)の三群に分け, まったく染色されなかったものを陰性, 弱染色及び強染色を陽性と判定した.

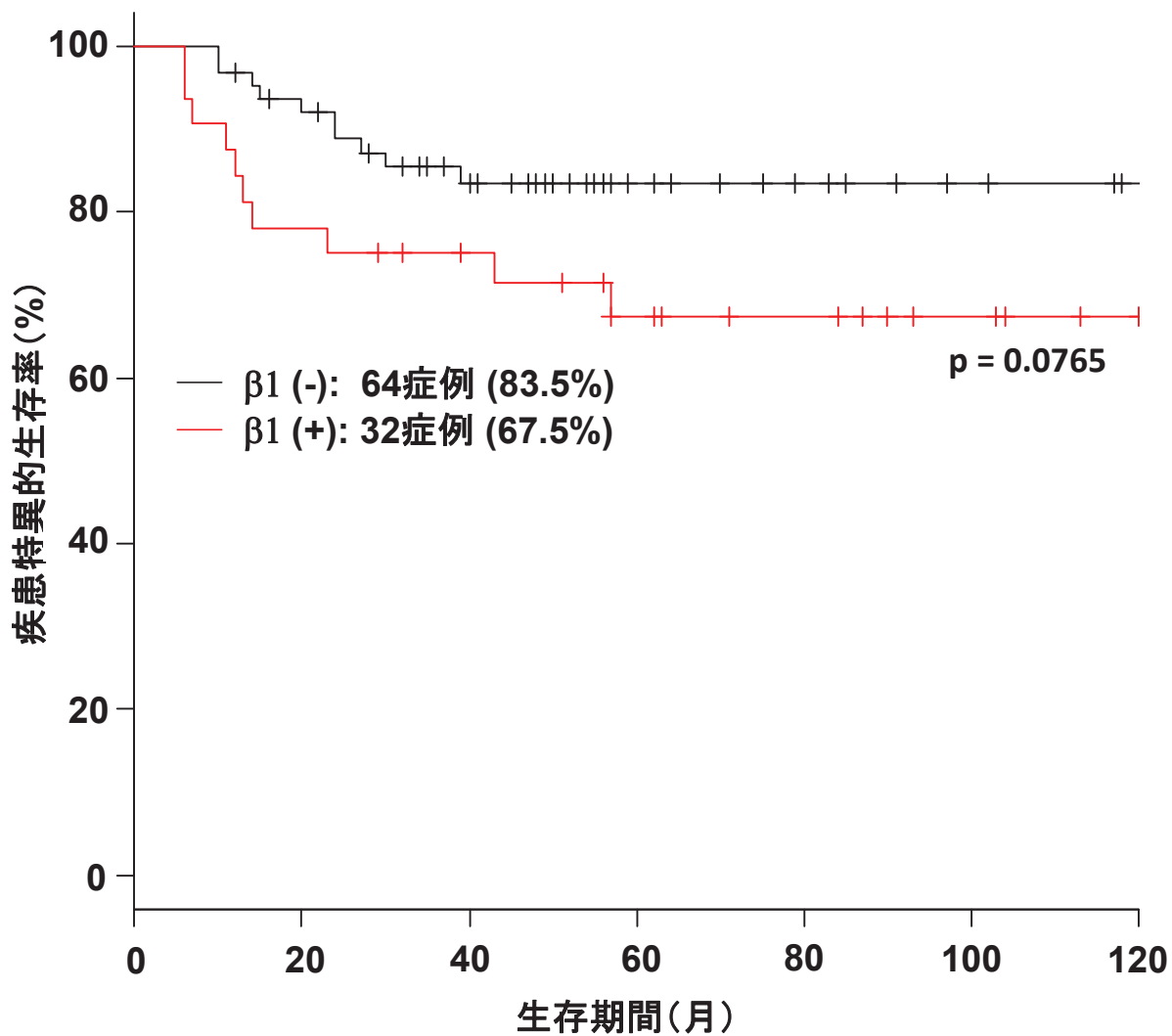


図8 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者のインテグリン $\beta 1$ 発現別生存曲線 $\beta 1$ 発現陰性 (-) 64 症例と陽性 (+) 32 症例 の二群に分類し検討した. () 内は 5 年生存率で, 二群間の比較は Logrank 検定にて行った.

表 5 インテグリン $\beta 1$ 発現と臨床病理学的因子

		$\beta 1$		p 値
		(-)	(+)	
性別	男性	34	22	0.143 ⁽¹⁾
	女性	30	10	
年齢	65未満	29	16	0.664 ⁽¹⁾
	65以上	35	16	
部位	口底	7	3	0.306 ⁽¹⁾
	上歯肉	13	2	
	下歯肉	24	12	
	頬粘膜	3	1	
	舌	17	14	
分化度	高分化	37	14	0.408 ⁽¹⁾
	中等度	22	14	
	低分化	5	4	
T	1	9	2	0.384 ⁽²⁾
	2	28	14	
	3	9	6	
	4	18	10	
N	-	36	15	0.515 ⁽¹⁾
	+	28	17	
Stage	I	8	2	0.587 ⁽²⁾
	II	21	10	
	III	9	7	
	IV	26	13	
予後	生存	54	22	0.0765 ⁽³⁾
	原病死	10	10	

(1) : χ^2 検定

(2) : Mann-Whitney U 検定

(3) : Logrank 検定

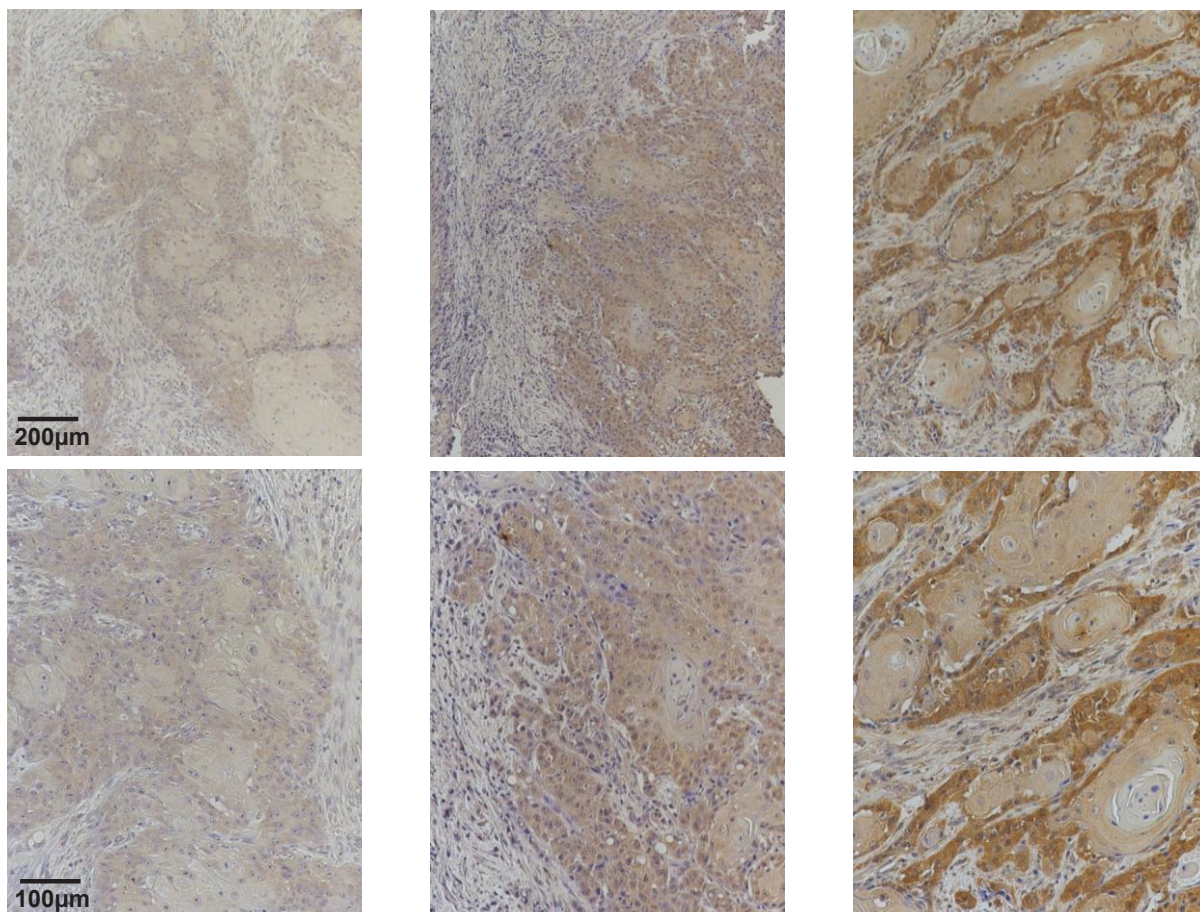


図9 口腔扁平上皮癌組織での $\beta 6$ 発現

まったく染色されなかったもの(左), 弱染色(中), 強染色(右)の三群に分け, まったく染色されなかったものを陰性, 弱染色及び強染色を陽性と判定した

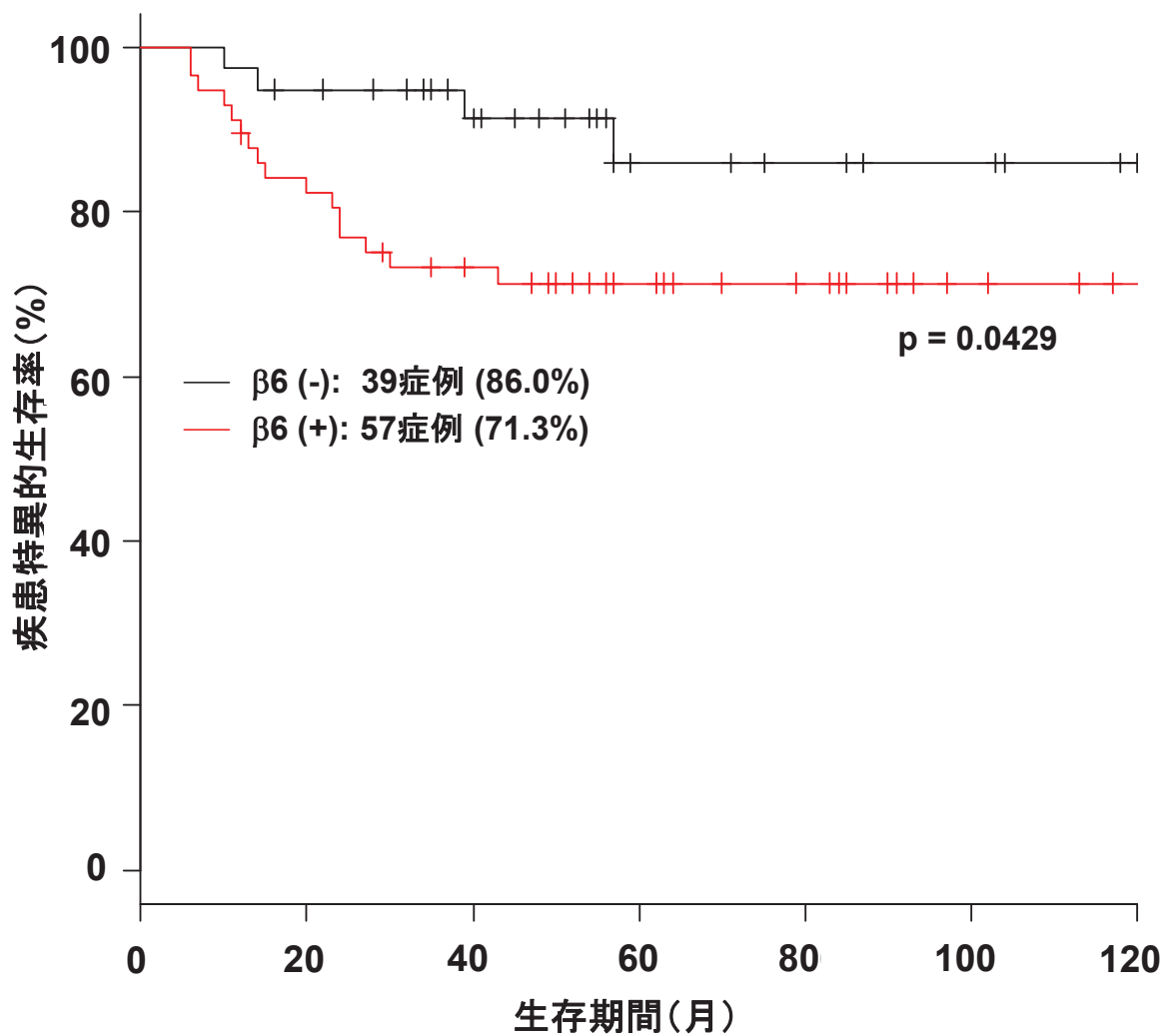


図 10 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者のインテグリン $\beta 6$ 発現別生存曲線
 $\beta 6$ 発現陰性 (-) 39 症例と陽性 (+) 57 症例の二群に分類し検討した. () 内は 5 年
 生存率で, 二群間の比較は Logrank 検定にて行った.

表 6 インテグリン $\beta 6$ 発現と臨床病理学的因子

		$\beta 6$		p 値
		(-)	(+)	
性別	男性	21	35	0.461 ⁽¹⁾
	女性	18	22	
年齢	65未満	21	24	0.258 ⁽¹⁾
	65以上	18	33	
部位	口底	2	8	0.114 ⁽¹⁾
	上歯肉	7	8	
	下歯肉	20	16	
	頬粘膜	1	3	
	舌	9	22	
分化度	高分化	23	28	0.251 ⁽¹⁾
	中等度	11	25	
	低分化	5	4	
T	1	7	4	0.56 ⁽²⁾
	2	16	26	
	3	3	12	
	4	13	15	
N	-	22	29	0.745 ⁽¹⁾
	+	17	28	
Stage	I	6	4	0.647 ⁽²⁾
	II	9	22	
	III	6	10	
	IV	18	21	
予後	生存	35	41	0.0429 ⁽³⁾
	原病死	4	16	

(1) : χ^2 検定

(2) : Mann-Whitney U 検定

(3) : Logrank 検定

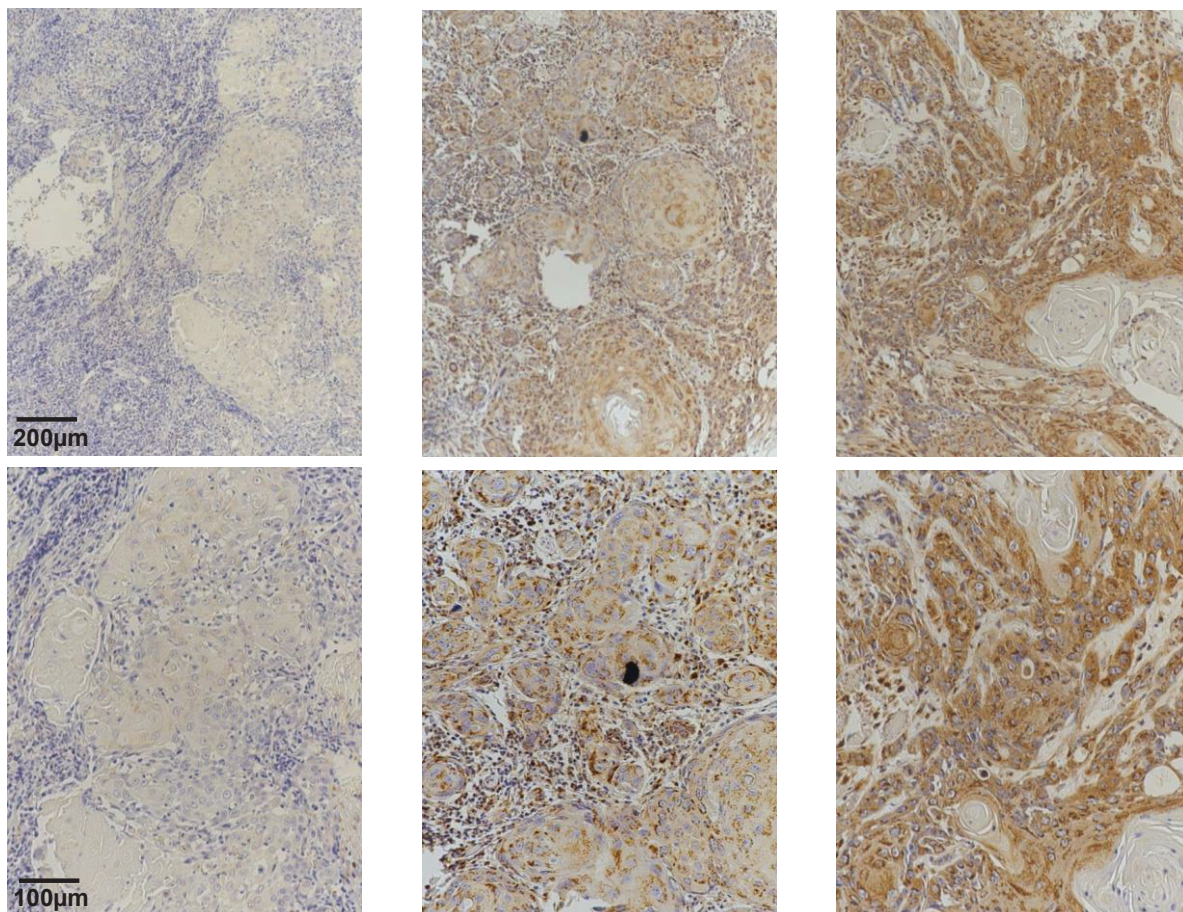


図 11 口腔扁平上皮癌組織での $\beta 8$ 発現

まったく染色されなかったもの(左), 弱染色(中), 強染色(右)の三群に分け, まったく染色されなかったものを陰性, 弱染色及び強染色を陽性と判定した.

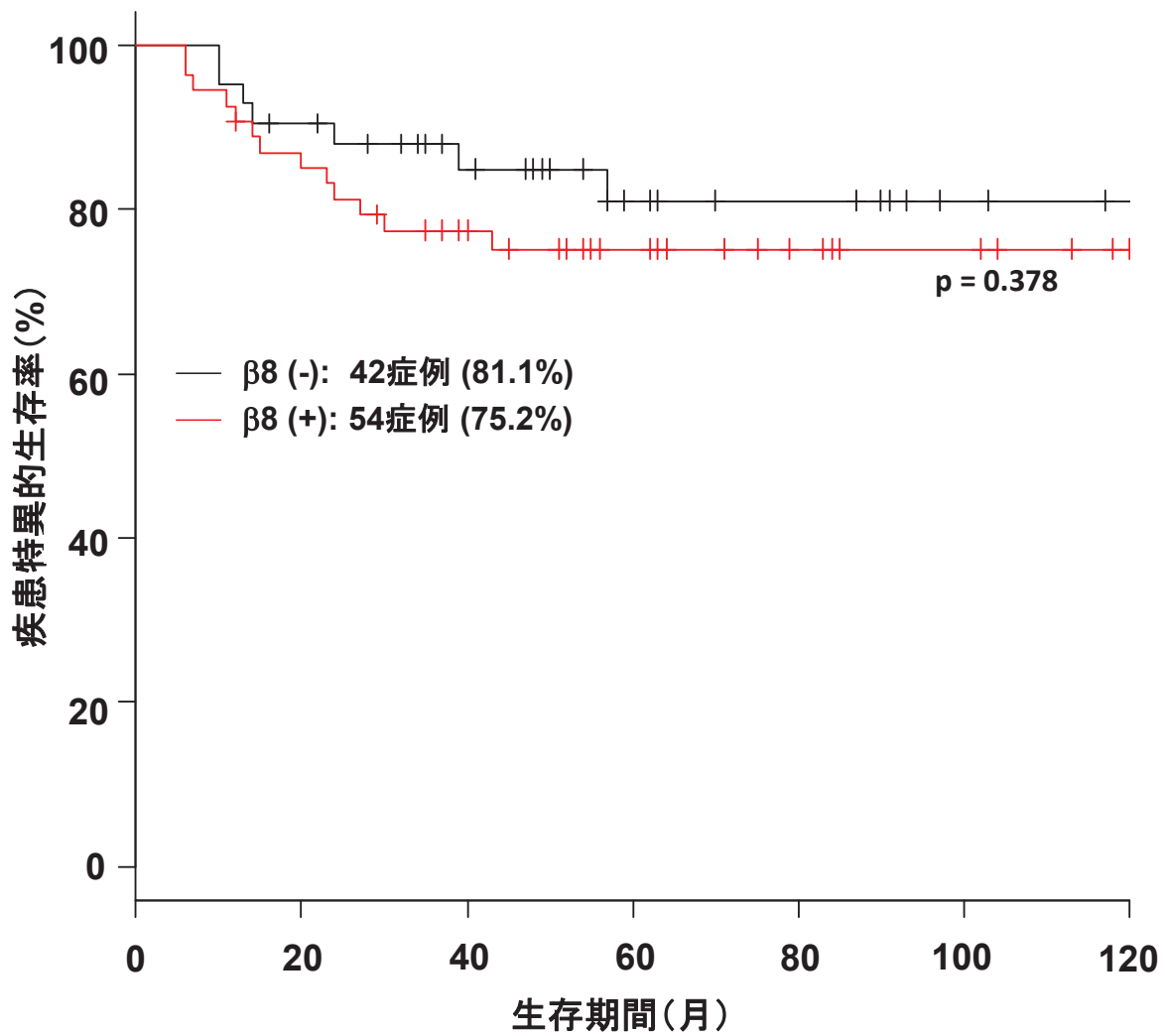


図 12 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者のインテグリン $\beta 8$ 発現別生存曲線
 $\beta 8$ 発現陰性(-)42 症例と陽性(+)54 症例の二群に分類し検討した. () 内は 5 年生存率で, 二群間の比較は Logrank 検定にて行った.

表7 インテグリンβ8発現と臨床病理学的因子

		β8		p 値
		(-)	(+)	
性別	男性	20	36	0.0604 ⁽¹⁾
	女性	22	18	
年齢	65未満	18	27	0.487 ⁽¹⁾
	65以上	24	27	
部位	口底	2	8	0.499 ⁽¹⁾
	上歯肉	7	8	
	下歯肉	17	19	
	頬粘膜	1	3	
	舌	15	16	
分化度	高分化	23	28	0.64 ⁽¹⁾
	中等度	14	22	
	低分化	5	4	
T	1	7	4	0.286 ⁽²⁾
	2	18	24	
	3	6	9	
	4	11	17	
N	-	29	22	0.0107 ⁽¹⁾
	+	13	32	
Stage	I	6	4	0.148 ⁽²⁾
	II	16	15	
	III	5	11	
	IV	15	24	
予後	生存	35	41	0.378 ⁽³⁾
	原病死	7	13	

(1) : χ^2 検定

(2) : Mann-Whitney U 検定

(3) : Logrank 検定

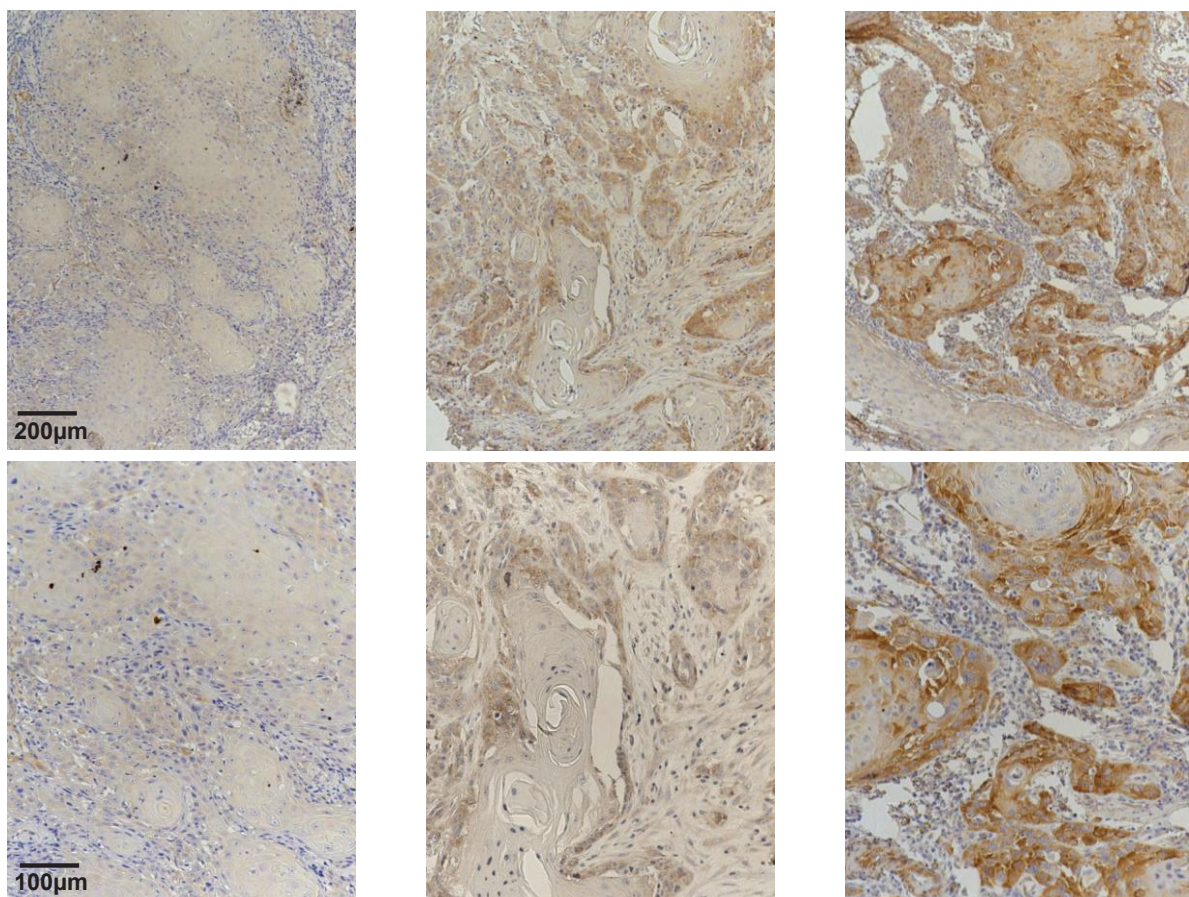


図 13 口腔扁平上皮癌組織での FAK 発現

まったく染色されなかったもの(左), 弱染色(中), 強染色(右)の三群に分け, まったく染色されなかったものを陰性, 弱染色及び強染色を陽性と判定した.

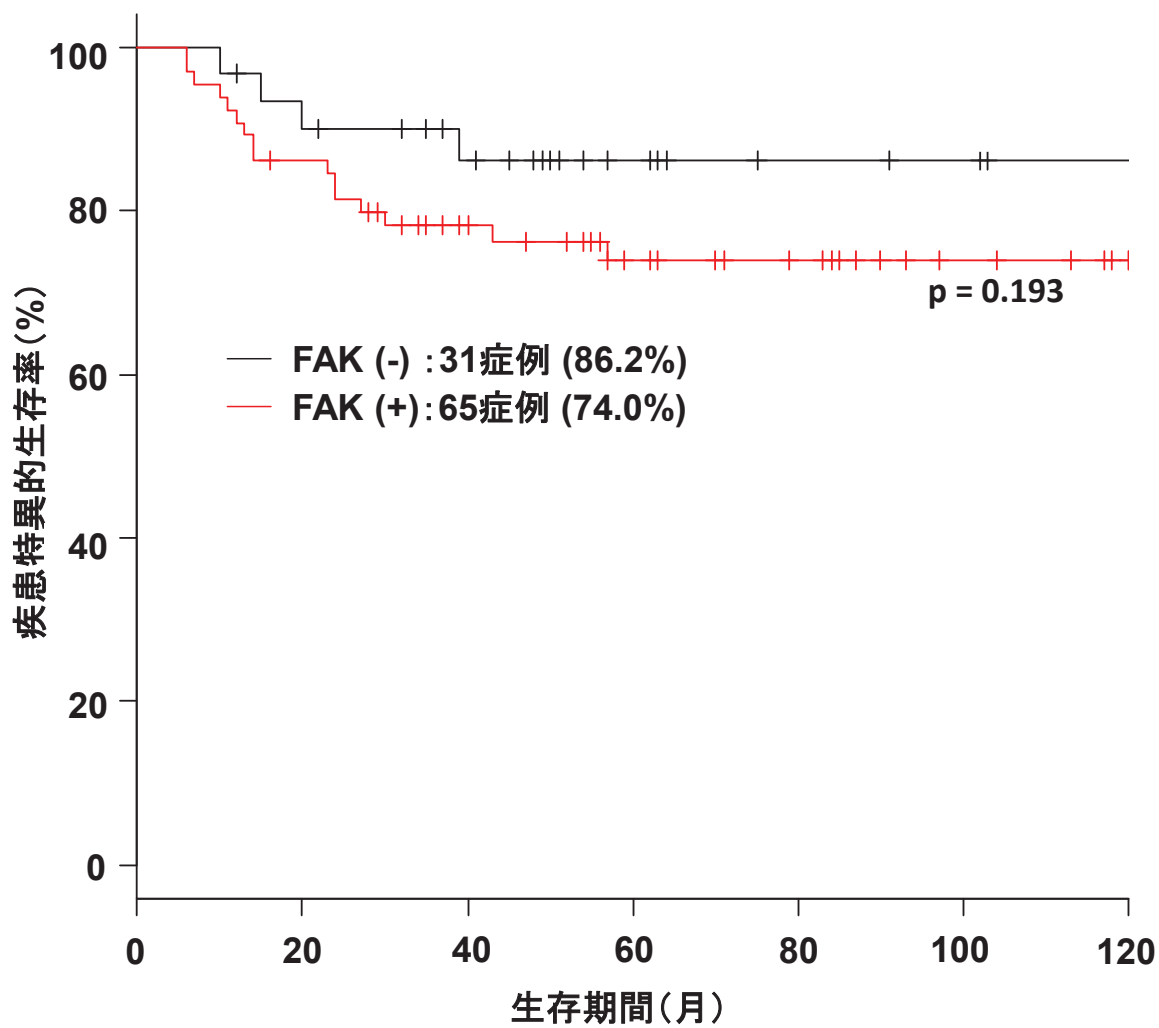


図 14 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者の FAK 発現別生存曲線
 FAK 発現陰性 (-) 31 症例と陽性 (+) 65 症例 の二群に分類し検討した. () 内
 は 5 年生存率で, 二群間の比較は Logrank 検定にて行った.

表 8 FAK 発現と臨床病理学的因子

		FAK		p 値
		(-)	(+)	
性別	男性	17	39	0.631 ⁽¹⁾
	女性	14	26	
年齢	65未満	13	32	0.503 ⁽¹⁾
	65以上	18	33	
部位	口底	2	8	0.708 ⁽¹⁾
	上歯肉	6	9	
	下歯肉	10	26	
	頬粘膜	2	2	
	舌	11	20	
分化度	高分化	18	33	0.354 ⁽¹⁾
	中等度	12	24	
	低分化	1	8	
T	1	8	3	0.17 ⁽²⁾
	2	10	32	
	3	5	10	
	4	8	20	
N	-	21	30	0.0799 ⁽¹⁾
	+	10	35	
Stage	I	8	2	0.139 ⁽²⁾
	II	8	23	
	III	3	13	
	IV	12	27	
予後	生存	27	49	0.211 ⁽³⁾
	原病死	4	16	

(1) : χ^2 検定

(2) : Mann-Whitney U 検定

(3) : Logrank 検定

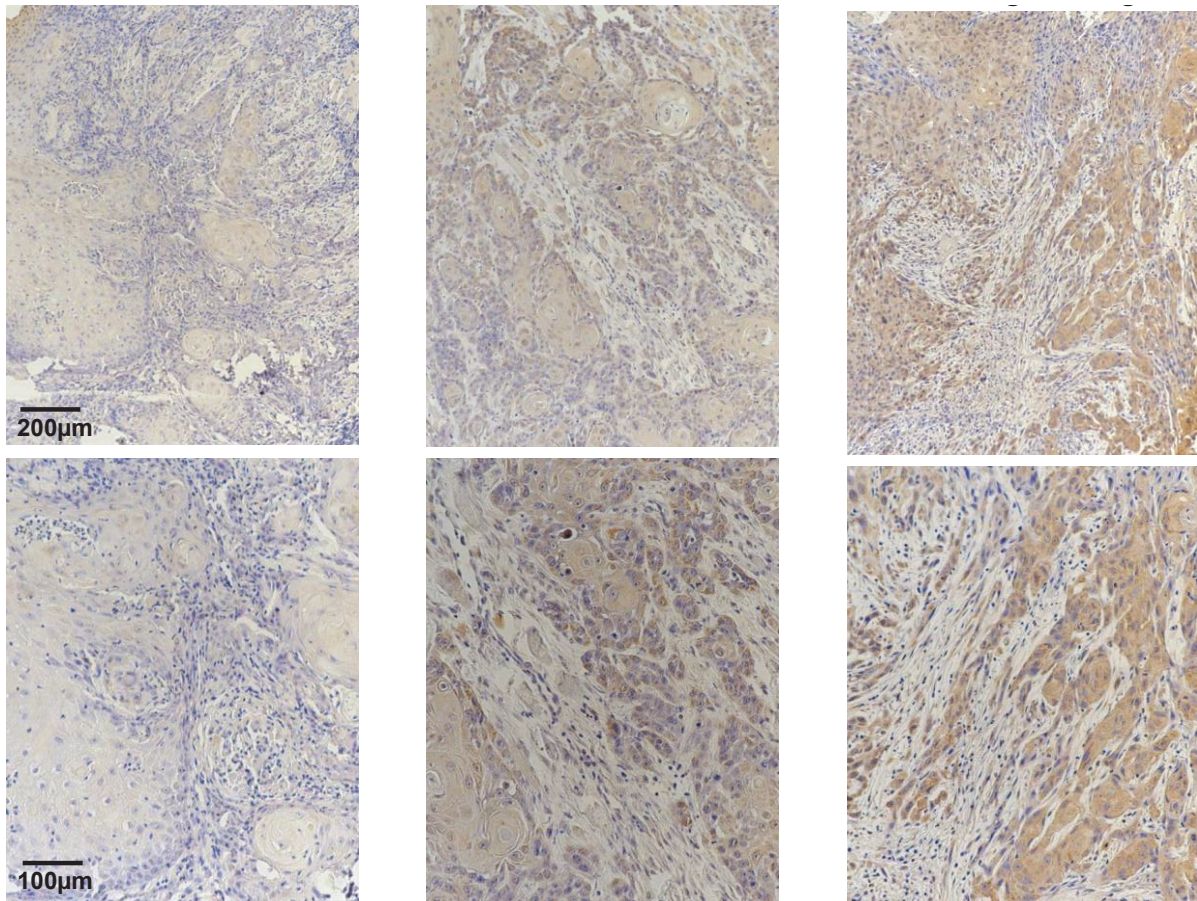


図 15 口腔扁平上皮癌組織での pFAK 発現

まったく染色されなかったもの(左), 弱染色(中), 強染色(右)の三群に分け, まったく染色されなかったものを陰性, 弱染色及び強染色を陽性と判定した.

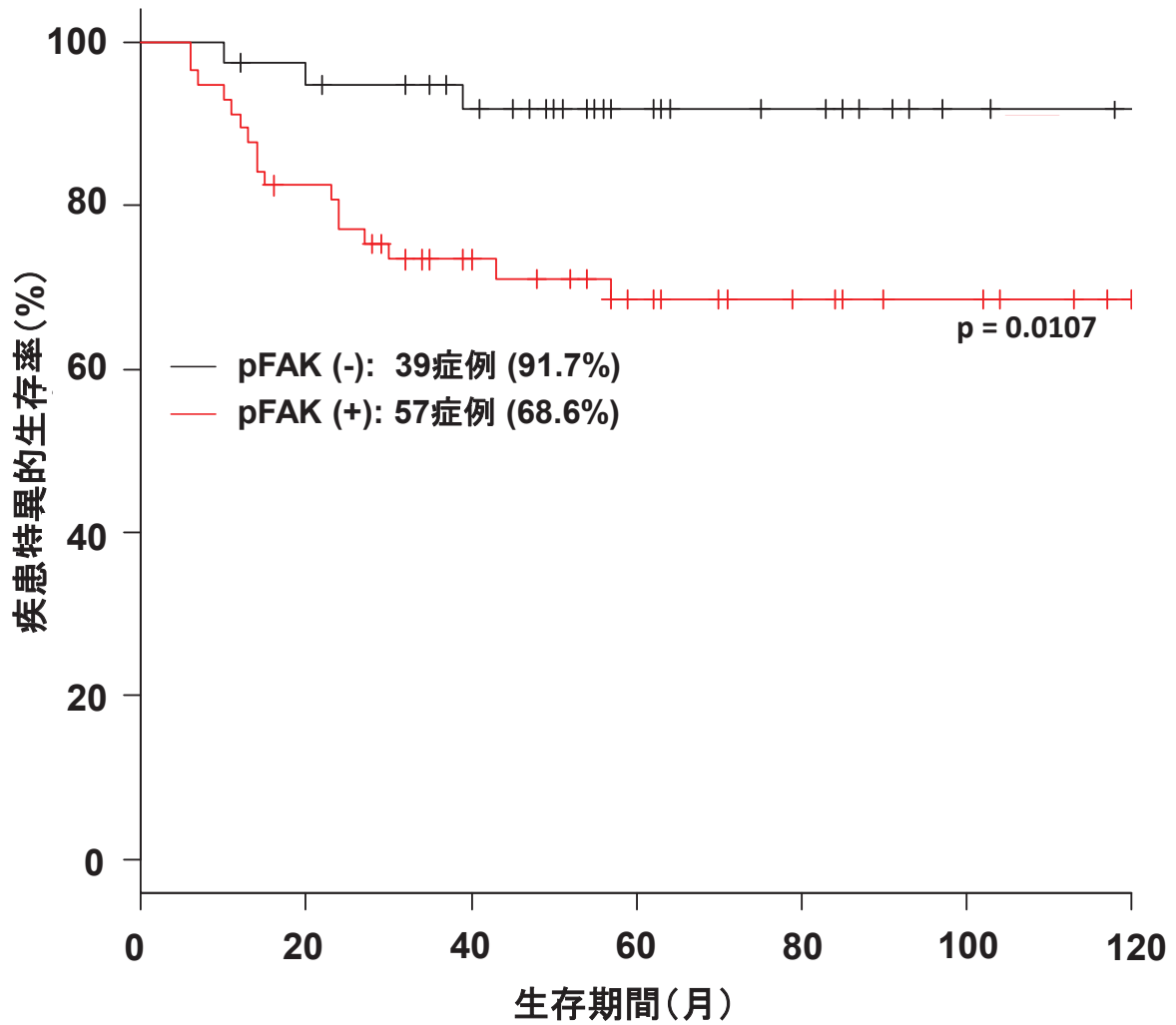


図 16 Kaplan-Meier 法による口腔扁平上皮癌患者の pFAK 発現別生存曲線
 pFAK 発現陰性 (-) 39 症例と陽性 (+) 57 症例の二群に分類し検討した. () 内は
 5 年生存率で, 二群間の比較は Logrank 検定にて行った.

表 9 pFAK 発現と臨床病理学的因子

		pFAK		p 値
		(-)	(+)	
性別	男性	20	36	0.246 ⁽¹⁾
	女性	19	21	
年齢	65未満	15	30	0.172 ⁽¹⁾
	65以上	24	27	
部位	口底	3	7	0.293 ⁽¹⁾
	上歯肉	7	8	
	下歯肉	11	25	
	頬粘膜	3	1	
	舌	15	16	
分化度	高分化	22	29	0.493 ⁽¹⁾
	中等度	15	21	
	低分化	2	7	
T	1	7	4	0.0672 ⁽²⁾
	2	17	25	
	3	8	7	
	4	7	21	
N	-	22	29	0.745 ⁽¹⁾
	+	17	28	
Stage	I	7	3	0.181 ⁽²⁾
	II	11	20	
	III	8	8	
	IV	13	26	
予後	生存	36	40	0.0107 ⁽³⁾
	原病死	3	17	

(1) : χ^2 検定

(2) : Mann-Whitney U 検定

(3) : Logrank 検定

表 10 インテグリン αv ファミリー, FAK 及び pFAK 発現と臨床病理学的因子

		αv		p 値	$\beta 1$		p 値	$\beta 6$		p 値	$\beta 8$		p 値	FAK		p 値	pFAK		p 値
		(-)	(+)		(-)	(+)		(-)	(+)		(-)	(+)		(-)	(+)		(-)	(+)	
性別	男性	24	32		34	22		21	35		20	36		17	39		20	36	
	女性	17	23	0.972 ⁽¹⁾	30	10	0.143 ⁽¹⁾	18	22	0.461 ⁽¹⁾	22	18	0.0604 ⁽¹⁾	14	26	0.631 ⁽¹⁾	19	21	0.246 ⁽¹⁾
年齢	65未満	19	26		29	16		21	24		18	27		13	32		15	30	
	65以上	22	29	0.928 ⁽¹⁾	35	16	0.664 ⁽¹⁾	18	33	0.258 ⁽¹⁾	24	27	0.487 ⁽¹⁾	18	33	0.503 ⁽¹⁾	24	27	0.172 ⁽¹⁾
部位	口底	6	4		7	3		2	8		2	8		2	8		3	7	
	上歯肉	8	7		13	2		7	8		7	8		6	9		7	8	
	下歯肉	13	23		24	12		20	16		17	19		10	26		11	25	
	頬粘膜	2	2		3	1		1	3		1	3		2	2		3	1	
	舌	12	19	0.584 ⁽¹⁾	17	14	0.306 ⁽¹⁾	9	22	0.114 ⁽¹⁾	15	16	0.499 ⁽¹⁾	11	20	0.708 ⁽¹⁾	15	16	0.293 ⁽¹⁾
分化度	高分化	25	26		37	14		23	28		23	28		18	33		22	29	
	中等度	11	25		22	14		11	25		14	22		12	24		15	21	
	低分化	5	4	0.164 ⁽¹⁾	5	4	0.408 ⁽¹⁾	5	4	0.251 ⁽¹⁾	5	4	0.64 ⁽¹⁾	1	8	0.354 ⁽¹⁾	2	7	0.493 ⁽¹⁾
T	1	4	7		9	2		7	4		7	4		8	3		7	4	
	2	14	28		28	14		16	26		18	24		10	32		17	25	
	3	10	5		9	6		3	12		6	9		5	10		8	7	
	4	13	15	0.175 ⁽²⁾	18	10	0.384 ⁽²⁾	13	15	0.56 ⁽²⁾	11	17	0.286 ⁽²⁾	8	20	0.17 ⁽²⁾	7	21	0.0672 ⁽²⁾
N	-	19	32		36	15		22	29		29	22		21	30		22	29	
	+	22	23	0.346 ⁽¹⁾	28	17	0.515 ⁽¹⁾	17	18	0.745 ⁽¹⁾	13	32	0.0107 ⁽¹⁾	10	35	0.0799 ⁽¹⁾	17	28	0.745 ⁽¹⁾
Stage	I	3	7		8	2		6	4		6	4		8	2		7	3	
	II	10	21		21	10		9	22		16	15		8	23		11	20	
	III	8	8		9	7		6	10		5	11		3	13		8	8	
	IV	20	19	0.0799 ⁽²⁾	26	13	0.587 ⁽²⁾	18	21	0.647 ⁽²⁾	15	24	0.148 ⁽²⁾	12	27	0.139 ⁽²⁾	13	26	0.181 ⁽²⁾
予後	生存	36	40		54	22		35	41		35	41		27	49		36	40	
	原病死	5	15	0.101 ⁽³⁾	10	10	0.0765 ⁽³⁾	4	16	0.0429 ⁽³⁾	7	13	0.378 ⁽³⁾	4	16	0.211 ⁽³⁾	3	17	0.0107 ⁽³⁾

(1) : χ^2 検定

(2) : Mann-Whitney U 検定

(3) : Logrank 検定