

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	横山 翔
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目 CD44高発現口腔扁平上皮癌細胞における amoeboid-to-mesenchymal transitionの制御機構			
論文審査担当者			
主査 太田 耕司		印	
審査委員 宮内 睦美			
審査委員 飛梅 圭			
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>幹細胞は自己複製能と分化能をもつ細胞であるが、癌組織においても癌特異的な幹細胞が存在し、腫瘍の再発や転移に深く関与すると考えられている。CD44高発現口腔扁平上皮癌細胞は、自己複製能や腫瘍形成能を有し、高いアポトーシス抵抗性を示すことから、幹細胞形質をもつことが示唆される。申請者らはこれまで、幹細胞形質を有するCD44高発現口腔扁平上皮癌細胞が細胞外基質や足場の弾性率の変化により、線維芽細胞様形態やアメーバ様形態に変化することを明らかとした。このアメーバ様形態を示すCD44高発現口腔扁平上皮癌細胞（amoeboid-like CD44^{high}口腔癌細胞）は、アクチン細胞骨格の再構築に関与するCofilin-1の高発現を示した。しかしながら、amoeboid-like CD44^{high}口腔癌細胞におけるCofilin-1の機能や、amoeboid-mesenchymal transition (AMT)の制御機構については未だ解明されていない。そのため本研究では、細胞外基質としてラミニン332をコーティングしたシリコンゲルを用いて細胞を培養し、amoeboid-like CD44^{high}口腔癌細胞におけるAMTの制御メカニズムについて検討を行った。</p> <p>結果を以下に示す。</p> <ol style="list-style-type: none"> amoeboid-like CD44^{high} OM-1細胞におけるCofilin-1の発現 Cofilin-1はamoeboid-like CD44^{high} OM-1細胞の細胞質および核内に発現を認め、TGF-β1によりCofilin-1タンパク質のリン酸化レベルは増加した。さらに、Cofilin-1 siRNAノックダウンにより、amoeboid-like CD44^{high} OM-1細胞の浸潤能は有意に減少した。 TGF-β1によるamoeboid-like CD44^{high} OM-1細胞への影響 TGF-β1によりamoeboid-like CD44^{high} OM-1細胞の<i>N-cadherin</i>および<i>Snail</i> mRNA発現は有意に増加した。また、TGF-β1によりamoeboid-like CD44^{high}口腔癌細胞は線維芽細胞様形態に変化し、AMTが誘導された。 TGF-β1によるERK1/2のリン酸化への影響 TGF-β1によりamoeboid-like CD44^{high} OM-1細胞のERK1/2のリン酸化は有意に増加した。さらに、TGF-β1により増加した<i>N-cadherin</i>および<i>Snail</i> mRNA発現は、ERK1/2 siRNAノックダウンにより有意に減少した。 TGF-β1により誘導されるmiRNA発現の解析 マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析の結果、TGF-β1存在下で、miR-422aはcontrolと比較して約0.22倍の発現減少を示した。 miR-422a発現とAMTとの関係 TGF-β1により抑制されたmiR-422aの発現は、ERK inhibitorの添加により有意に増加した。さらに、miR-422aのノックダウンおよびCofilin-1 siRNAノックダウンを行った結果、amoeboid-like CD44^{high} OM-1細胞の形態は線維芽細胞様形態に変化した。 			

6. amoeboid-like CD44^{high} OM-1 細胞における抗癌剤抵抗性

amoeboid-like CD44^{high} OM-1 細胞は、5-fluorouracil, cisplatin, docetaxel により誘導されるアポトーシスに対して高い抵抗性を示した。さらに、amoeboid-like CD44^{high} OM-1 細胞におけるアポトーシス抵抗性には、miR-224-5p による Pannexin-1 発現の抑制が関与していた。

以上の結果より、amoeboid-like CD44^{high} 口腔癌細胞において、TGF-β1 は Cofilin-1 のリン酸化に関与し、さらに ERK1/2 の活性化を介して miR-422a の発現を抑制し、AMT を誘導することが明らかとなった。CD44^{high} 口腔癌細胞は、周囲の微小環境、すなわち細胞外基質や足場の硬さ、サイトカインなどの液性因子などにより、表現型を線維芽細胞様形態やアメーバ様形態に変えることが可能であり、この表現型の可塑性が、癌幹細胞形質の重要な特徴のひとつと考えられた。

本論文は、amoeboid-like CD44^{high} 口腔癌細胞が、口腔扁平上皮癌の浸潤、転移、抗がん剤抵抗性に関与している可能性を明らかとした。本論文に示された結果は、口腔癌幹細胞の主要制御因子の解明や口腔癌幹細胞を標的とした治療法の開発につながる可能性が期待できる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。