

Title	口腔扁平上皮癌の浸潤増殖における上皮成長因子(EGF)と線維芽細胞の関与
Author(s)	林堂, 安貴
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3086304
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	はやし 林	どう 堂	やす 安	なか 貴
博士の専攻分野 の 名 称	博 士 (歯 学)			
学 位 記 番 号	第 9 9 6 6 号			
学位授与年月日	平成 3 年 12 月 4 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当			
学 位 論 文 名	口腔扁平上皮癌の浸潤増殖における上皮成長因子 (E G F) と線維芽細胞の関与			
論文審査委員	(主査) 教 授	松矢 篤三		
	(副査) 教 授	八木 俊雄 助教授 滝川 正春 講 師 木村 重信		

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

上皮成長因子 (E G F) は E G F 受容体を介して各種細胞に対し増殖促進のみならず多様な生物活性を示すことが知られている。 E G F 受容体がガン遺伝子の V-erb-B 遺伝子産物と高い相同性を持つことや扁平上皮癌などの悪性腫瘍に過剰発現することが報告されて以来、 E G F や E G F 受容体が細胞の癌化や癌細胞の動態に密接に関与していると考えられるようになった。生体において成長因子は細胞間で複雑に関連し合い、種々の生物活性を発揮すると推察されるが、その詳細は明らかにされていない。

口腔粘膜は粘膜上皮と結合組織で構成されておりその増殖・分化や癌化、さらに口腔粘膜癌の増殖・浸潤においても成長因子を介した上皮-間葉相互作用が関与していると推測される。そこで口腔扁平上皮癌の増殖や浸潤に E G F や間質の線維芽細胞がどのように関与しているかを明らかにする目的で、コラーゲンゲル培養法を用いて口腔扁平上皮癌細胞の増殖・浸潤機構の解析を行なった。

(方法と結果)

実験にはヒト口底癌由来の K B , 当講座にて樹立した舌癌由来の扁平上皮癌細胞株 S C C K N と S C C T F 及び正常口腔粘膜組織ならびに口腔癌組織から組織片培養法によって得られた線維芽細胞を用いた。

1. 扁平上皮癌細胞の増殖に対する E G F の影響

単層培養下での扁平上皮癌細胞の増殖は 3 株とも E G F 添加により濃度依存性に抑制され、無添加時に比較し 100 n g / ml の E G F 添加で K B は 52% , S C C K N は 57% , S C C T F は 72% に増殖が抑制された。またコラーゲンゲル内培養においても 10 n g / ml 以上の E G F 添加により S C C K

N及びSCCTFの増殖は約50%~60%に抑制された。

2. 扁平上皮癌細胞のEGF結合能の測定

各扁平上皮癌細胞のEGF受容体の発現を $[^{125}\text{I}]$ EGF binding assayにて検索した。SCCKNは解離定数Kdが1.4 nMの受容体を細胞あたり 6.2×10^4 個, KBはKd値16.5 nMの受容体を細胞あたり 4.7×10^4 個有していた。SCCTFはKd値0.54 nMの高親和性とKd値4.5 nMの低親和性の受容体をそれぞれ細胞あたり 13.4×10^4 個, 81.0×10^4 個保有していた。

3. コラーゲンゲルに対する扁平上皮癌細胞の浸潤能

コラーゲンゲル上に 2.5×10^4 個の扁平上皮癌細胞を加え12日間培養後にゲル内に侵入した浸潤細胞数を位相差顕微鏡にて算定した。10 ng/ml以上のEGF添加により浸潤細胞数の増加がみられ、10 ng/mlのEGF添加で無添加時と比べSCCKNでは32倍, SCCTFでは6.5倍に浸潤細胞数が増加した。

また線維芽細胞単層培養上に作製されたコラーゲンゲル上で扁平上皮癌細胞を培養するとSCCKNとSCCTFのゲル内への浸潤細胞の増加がみられた。なお、この浸潤促進は抗EGF抗体を加えることにより抑制された。一方、KBではEGFや線維芽細胞による細胞浸潤の促進はみられなかった。

4. 扁平上皮癌細胞の蛋白分解活性

扁平上皮癌細胞の培養上清に対しカゼインを基質とするザイモグラフィーを行い扁平上皮癌細胞のプラスミノゲンアクチベータ(PA)産生を検討した。SCCKN及びSCCTFは強いウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター(uPA)活性を有するのに対し、KBのuPA活性は極めて弱かった。SCCKNとSCCTFのuPA産生は10 ng/ml以上のEGFを添加することにより著明に促進された。一方、KBではEGFによるuPA産生の亢進はみられなかった。また、uPA活性の亢進は線維芽細胞の培養上清で扁平上皮癌細胞を処理することによっても認められた。同時にフィブリンを基質とする逆相ザイモグラフィーにて扁平上皮癌細胞のプラスミノゲンアクチベーターインヒビター(PAI)産生を検索した。SCCKNとSCCTFではPAI活性が極めて弱いかあるいはほとんどみられないのに対し、KBでは強いPAI産生が認められた。なお、EGF添加によるこれらのPAI活性の変化は認められなかった。

5. 扁平上皮癌細胞のEGF産生に対する線維芽細胞の影響

扁平上皮癌細胞及び線維芽細胞の培養上清中のEGF量を2抗体サンドイッチELISA法にて測定した。線維芽細胞では細胞蛋白1 mgあたり約10~50 pg/mlのEGFを培養上清中に産生するのにに対し扁平上皮癌細胞では約400~1200 pg/mlと多量のEGFを産生していた。さらに、扁平上皮癌細胞によるEGF産生は、線維芽細胞の培養上清の添加により促進された。

(結 論)

以上の結果より扁平上皮癌細胞はEGF受容体を発現しているとともにEGF産生能を有しており、そのEGF分泌は線維芽細胞の産生する液性因子により促進されること、またEGFは扁平上皮癌細胞に対して増殖を抑制する一方で、蛋白分解酵素産生を亢進することにより細胞浸潤を促進させるこ

とが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究はコラーゲンをを用いた *in vitro* 細胞浸潤実験モデルを開発し、口腔扁平上皮癌細胞の浸潤増殖に与える上皮成長因子 (EGF) の影響について検討したものである。その結果、EGF が扁平上皮癌細胞の増殖を抑制する一方で、蛋白分解活性を亢進し細胞浸潤を促進させることを明らかにしている。さらに扁平上皮癌細胞の浸潤促進が線維芽細胞との混合培養によってもみられることを示し、その機序の一部に線維芽細胞の液性因子による癌細胞内因性 EGF の発現促進が関与していることを示唆した。本研究の *in vitro* 浸潤モデルは生体での癌細胞浸潤特性をよく再現しており、得られた知見は癌の浸潤様式を理解する上で価値のあるものである。

従って、本研究者は博士 (歯学) の学位を得る資格があるものと認める。