

Title	口腔扁平上皮癌におけるFatty Acid Binding Protein 4 (FABP4) の役割
Author(s)	李, 篤史
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/34363
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (李 篤 史)

論文題名

口腔扁平上皮癌におけるFatty Acid Binding Protein 4 (FABP4) の役割

論文内容の要旨

【背景と目的】

Fatty acid binding proteins (FABPs)は脂質シャペロン分子として様々な生理機能を有している。少なくとも9つのファミリー分子が同定されており、それぞれ様々な臓器に発現している。FABPsは脂肪滴における脂質の貯留、小胞体における膜形成やシグナル伝達、細胞質における酵素活性、核における転写、ミトコンドリアにおける β 酸化、ペルオキシソームにおける酸化など様々な機能に関わっている。そのうち、fatty acid binding protein 4 (FABP4)は脂肪細胞、マクロファージ、樹状細胞に発現しており、代謝や炎症反応、メタボリックシンドロームの進展に重要な役割を果たすことが報告されている。これまでの研究において、peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) やそれによって転写制御されている様々な分子、aquaporin、endothelin等が癌細胞の増殖に関与することが見出されてきた。さらに、FABP4の転写の一部もPPAR γ によって制御されていることも明らかになっている。近年、FABP4が卵巣癌や膀胱癌で発現していることが報告され、癌においても何らかの重要な役割を果たしていることが示唆されている。しかしながら、依然としてFABP4の癌細胞、特に扁平上皮癌における役割については不明な点が多いのが現状である。そこで我々は、口腔扁平上皮癌におけるFABP4の発現とその役割について検討した。

【方法】

大阪大学歯学部附属病院で倫理委員会の承認後にインフォームドコンセントを取得し、術前化学療法・放射線療法を行っていない舌扁平上皮癌手術症例のうち、十分な量の組織検体（パラフィンブロック）が残っており、同一切片上で癌と非癌部があるもの、カルテや患者情報が十分そろっている症例を無作為に抽出した。抽出した27症例のうち12例に頸部リンパ節転移を認めた。それらの症例の組織切片を作製し、FABP4の免疫組織化学染色を行った。免疫染色の評価はダブルブラインドによりスコア化を行い、癌部と非癌部を比較検討した。また頸部リンパ節転移12症例について、同様に頸部リンパ節の免疫組織化学染色を行いスコア化した。

次に、FABP4の癌細胞における役割を検討するため培養細胞による検討を行った。培養細胞は舌扁平上皮癌由来のSASを用いた。まず、SASにおけるFABP4の発現をwestern blotting法で確認した。また、FABP4特異的small interfering RNA (siRNA) を作製し、FABP4特異的ノックダウンによる細胞増殖への影響を次のように検討した。

- ①FABP4特異的siRNA処置後の細胞数をカウントし、FABP4ノックダウンによる細胞増殖における影響を検討した。
- ②FABP4ノックダウンによる細胞増殖抑制のメカニズムを解明するため、mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路の一つであるextracellular signal-regulated kinase (Erk)の活性化についてwestern blotting法にて評価を行った。
- ③さらに、アポトーシス経路の活性化についてcleaved-caspase3の発現をwestern blotting法で評価した。
- ④エネルギー産生への影響を検討するため、細胞あたりのATP量を算出した。

【結果と考察】

患者由来の癌組織切片を用いた検討において、免疫組織化学染色の結果、FABP4は同一切片上の非癌部に比べ、癌部において有意な高発現を認めた。また、転移リンパ節12症例すべてにおいてFABP4の発現を認め、その原発巣と同様にFABP4の発現を認めた。

培養細胞においてFABP4特異的siRNAによるノックダウンにより、細胞増殖が有意に抑制された。これらの結果によりFABP4は扁平上皮癌細胞において高発現し、細胞増殖について重要な役割を果たしていると考えられた。

次に細胞増殖抑制のメカニズムの一つとして、MAPK経路の活性をwestern blotting法にて評価した。その結果、FABP4ノックダウンによりリン酸化Erk（活性化Erk）の発現が顕著に抑制されていることが明らかになった。また、興味深いことに、Erkの発現自体も抑制されていることがわかった。これらの結果は、FABP4がErkの活性化に関わっていることと同時に、何らかの経路でErk自体の発現維持に深く関わっていることを示唆している。

癌細胞は様々な機構でアポトーシスを回避していることが報告されている。今回アポトーシス経路の活性の1つとしてcleaved-caspase3の発現を評価した。FABP4特異的siRNAによるノックダウンにより、cleaved-caspase3の発現が認められた。これらの結果は、FABP4が癌細胞で高発現することにより何らかの経路でカスパーゼの活性化を抑制し、アポトーシスの回避機構に関わっている可能性を示唆のものであると考えられる。

本研究ではFABP4ノックダウンによるATP産生量について検討したが、FABP4-siRNA処置群において若干細胞あたりのATP量が減少したものの有意な差は認めなかった。これは口腔扁平上皮癌においてはWarburg effectによって解糖系が亢進しており、十分なATP供給がなされているためであると考えられた。

FABP4の機能は多岐にわたり癌細胞における役割は非常に複雑であると考えられる。今回、メカニズムの一部としてErk経路およびcleaved-caspase3の活性が関与していることを見出した、今後より詳細なメカニズムの解明が必要になるものと考えられる。

【結語】

FABP4は口腔扁平上皮癌組織の癌部および培養細胞に高発現していた。ヒト扁平上皮癌培養細胞においてFABP4ノックダウンにより有意に細胞増殖が抑制された。そのメカニズムとしてErkの抑制およびアポトーシス経路の活性が関与していることが示唆された。FABP4は口腔扁平上皮癌治療において新たなターゲット分子となりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (李 篤 史)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 古郷 幹彦
	副 査 教授 豊澤 悟
	副 査 講師 中澤 光博
	副 査 講師 北垣 次郎太
論文審査の結果の要旨	
<p>本研究は口腔扁平上皮癌における脂質シャペロン分子である Fatty Acid Binding Protein 4 (FABP4) の発現とその機能について検討したものである。</p> <p>その結果、FABP4 は口腔癌組織および培養細胞において発現していることを明らかにした。さらに、癌細胞の培養実験の結果、増殖に関与し、そのメカニズムの一つとして、MAPK 経路のシグナル伝達系の抑制、アポトーシスの活性化が関与していることを明らかにした。</p> <p>この研究は、FABP4 の口腔扁平上皮癌細胞における関わりを理解する上で、重要な知見を得るものであり、博士（歯学）の学位に十分値するものであると認める。</p>	