



Title	口腔扁平上皮癌細胞の浸潤における細胞外基質蛋白トロンボスポンジン(TSP)の関与
Author(s)	中島, 昌宗
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40809
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	なか しま まさ ひろ 中 島 昌 宗
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 7 8 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床専攻
学 位 論 文 名	「口腔扁平上皮癌細胞の浸潤における細胞外基質蛋白トロンボスポンジン (TSP) の関与」
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松矢 篤三 (副査) 教 授 作田 正義 助教授 木村 重信 講 師 岩本 資己

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

がんの浸潤・転移はがん細胞固有の特性のみならず周囲の間質成分をはじめとする宿主との相互作用によって制御されている。特に細胞外基質蛋白は組織や器官の物理的支持体としてだけでなく独自のシグナルを細胞に与えることから、器官発生や組織分化のみならずがん化やがん細胞の浸潤・転移にも関与していることが知られている。

細胞外基質蛋白のひとつであるトロンボスポンジン (TSP) は乳癌組織や膀胱癌組織に高発現することや乳癌患者や肺癌患者の血漿中の TSP 量が上昇することから、がん化との関連性が指摘されている。また他の細胞外基質蛋白に対し親和性を示すことや細胞接着を制御していることからがんの浸潤・転移にも関与していると考えられている。本研究では口腔粘膜での TSP の局在、口腔粘膜の悪性化にともなう発現変化や TSP 産生細胞について検索するとともに TSP の口腔扁平上皮癌細胞の浸潤増殖に与える影響について解析することを目的とした。

【方法と結果】

1. 口腔粘膜組織における TSP 発現

外科的に切除された正常口腔粘膜、白板症及び口腔扁平上皮癌における TSP 発現を抗 TSP モノクローナル抗体を用い免疫組織学的に検討した。正常組織では TSP は殆ど発現がみられないのに対し、前癌病変である白板症、扁平上皮癌と悪性度が高くなるにつれ上皮に近接した間質における TSP 発現が増強した。特に癌周囲の間質が抗 TSP 抗体によって強染された。

2. 扁平上皮癌細胞と線維芽細胞の TSP 産生

癌間質に高発現している TSP の由来を検索するため口腔扁平上皮癌細胞株 NA, HSC-3, SAS 及び Ca9-22 と外科的に切除された正常歯肉及び口腔癌組織より組織片培養法によって得られた線維芽細胞の TSP 産生を抗 TSP 抗体を用いた免疫沈降法で検討した。いずれの扁平上皮癌細胞も TSP を殆ど産生しないのに対し、線維芽細胞は多量の TSP を産生していた。また正常歯肉由来線維芽細胞と口腔癌組織由来線維芽細胞の TSP 産生量に明らかな差は認められなかった。扁平上皮癌細胞の培養上清存在あるいは非存在下で線維芽細胞を培養しその TSP 産生量を検討したところ、線維芽細胞の TSP 産生は扁平上皮癌細胞培養上清添加により強く促進されることが明らかになった。

3. 扁平上皮癌細胞の増殖能に対する TSP の影響

トロンビン刺激したヒト血小板からゼラチン親和クロマトグラフィー、ヘパリン親和性クロマトグラフィー及びゲ

ルクロマトグラフィーにて TSP を精製し、TSP が扁平上皮癌細胞の増殖に与える影響について検討した。100 μ g/ml の TSP を添加しても扁平上皮癌細胞の増殖は影響を受けなかった。

4. 口腔扁平上皮癌細胞の蛋白分解活性に対する TSP の影響

扁平上皮癌細胞を TSP 存在下で培養し、その培養上清中の蛋白分解活性をゼラチンを基質とするザイモグラフィーにて検討した。その結果、TSP は扁平上皮癌細胞の matrix metalloproteinase - 9 (MMP - 9) 産生を強く亢進させることがわかった。

5. 扁平上皮癌細胞の運動に対する TSP の影響

ポアサイズ 8 μ m のケモタキセルを用いた Boyden chamber の変法にて細胞運動能を検討した。TSP は扁平上皮癌細胞のハプトタキシスを強く誘導したが、ケモタキシス及びケモキネシス誘導活性を示さなかった。

6. 扁平上皮癌細胞の接着能に対する TSP の影響

TSP でコートしたあるいはコートされない培養皿に扁平上皮癌細胞を加え、培養皿に接着した細胞を算定した。TSP でコートされない培養皿には培養 6 時間後でも約 15% の細胞が接着するのみだったのに対し、TSP でコートされた培養皿には 80% 以上の細胞が接着していた。

7. TSP のハプトタキシス誘導活性部位の解析

TSP にはインテグリンの CD36 及び CD51 の認識部位と N 末端側及び C 末端側にそれぞれ非インテグリン性の細胞結合部位が存在する。CD36 または CD51 認識アミノ酸のアナログペプチド CSVTCG または GRGDS で扁平上皮癌細胞を処理しても TSP のハプトタキシス誘導活性は影響を受けなかった。TSP をトロンビンまたはキモトリプシンで消化し、N 末端側または C 末端側の細胞結合部位が欠失した TSP を作製した。トロンビン処理では TSP のハプトタキシス誘導活性は影響を受けなかったが、キモトリプシン処理によって TSP のハプトタキシス誘導活性は消失した。

【結語】

TSP は口腔粘膜上皮直下の結合組織に局在し上皮の悪性化に伴い発現が増強した。特に口腔扁平上皮癌間質に強く発現することがわかった。癌間質の TSP は癌細胞によって産生されるのではなく主として間質細胞に由来し、その産生は癌細胞によって誘導されることが示された。TSP は扁平上皮癌細胞の MMP - 9 産生を誘導するとともに運動能を亢進させた。以上の結果より、癌細胞は間質細胞の TSP 産生を誘導し、癌間質に蓄積した TSP は口腔扁平上皮癌細胞の蛋白分解活性と運動能を亢進し浸潤を促進させると推察された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、細胞外基質蛋白の一つであるトロンボスポンジン (TSP) の口腔粘膜での局在と産生細胞の検索、さらに TSP の口腔扁平上皮癌細胞の浸潤・増殖に与える影響について解析したものである。その結果、TSP が癌間質に強く発現し、線維芽細胞などの間質細胞由来であり、その産生は扁平上皮癌細胞によって誘導されることが示された。また TSP が扁平上皮癌細胞の蛋白分解活性と細胞遊走を亢進させることを明らかにした。このことは扁平上皮癌細胞によって発現が誘導される間質由来の TSP が扁平上皮癌細胞の浸潤を促進させていることを示唆している。

本研究によって得られた知見は口腔扁平上皮癌の浸潤における上皮-間質相互作用の役割の一端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。