

Title	Myeloid cell leukemia-1は口腔扁平上皮癌の細胞増殖を制御する
Author(s)	永田, 雅英
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49784
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【2】

氏名	なが た まさ ひで 永 田 雅 英
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学位記番号	第 22824 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学位論文名	Myeloid cell leukemia-1は口腔扁平上皮癌の細胞増殖を制御する
論文審査委員	(主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 上崎 善規 准教授 小川 裕三 講師 中澤 光博

論文内容の要旨

【目的】

Myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1)はB-cell lymphoma-2 family (Bcl-2 family)の一つであり、造血細胞のアポトーシス因子であることが知られている。最近の研究ではMcl-1はnon-small cell lung cancer、hepatocellular carcinomaなど種々の癌細胞にも発現しており、ミトコンドリアからチトクロームCの放出を抑制することでアポトーシスを抑制していると考えられている。しかしながら口腔扁平上皮癌におけるMcl-1の役割についての報告はほとんど存在していない。そこで今回我々は、Mcl-1の口腔扁平上皮癌における役割について調べた。

【方法】

1. 大阪大学歯学部第一口腔外科でインフォームドコンセント取得後外科切除を行った症例の中から、術前化学療法や放射線療法を行っていない舌扁平上皮癌組織をランダムに選び、Mcl-1の免疫組織化学染色を行った。その発現度を4段階(0~3)で評価してスコア化した。また、転移リンパ節についても免疫組織化学染色を行った。
2. 培養細胞を用いた検討では、乳児の口唇組織由来のfibroblast、舌扁平上皮癌であるSCCKN、SASを用いてウエスタンブロッティングを行い、Mcl-1の発現を検討した。
3. SCCKN、SAS、fibroblastにおいてMcl-1のsmall interfering RNA (Mcl-1-siRNA)をtransfectionし、ウエスタンブロッティングにてMcl-1の発現が抑制されているのを確認した後、MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl] -2,5-diphenyltetrazolium bromide)法にて細胞増殖能を検討した。
4. SCCKN、SASにMcl-1-siRNAをtransfectionした後、アポトーシスについてHoechst33342による核染色により検討した。またウエスタンブロッティングにてcaspase-3の活性化についても調べた。
5. Mcl-1阻害による細胞増殖抑制のメカニズムを解明するため、MAPK (mitogen-activated protein kinase)経路の活性化について解析した。
6. Mcl-1-siRNAと抗癌剤との併用による抗癌作用の相乗効果についてMTT法にて検討した。抗癌剤としてはcisplatinと5-FUを用いた。

【結果と考察】

1. Mcl-1は非癌部組織と比較して癌部組織に強く発現していた。また低分化扁平上皮癌より高分化扁平上皮癌においてMcl-1の発現を強く認めた。転移リンパ節についてもMcl-1の発現を認めた。
2. SCCKN、SASでは著明なMcl-1の発現を認めたが、fibroblastでの発現は弱かった。
3. SCCKN、SASにおいてはMcl-1-siRNA処置により有意な細胞増殖抑制を認めたが、fibroblastでは細胞増殖抑制はほとんど認められなかった。
4. Mcl-1は他の幾つかの癌においてアポトーシス抑制分子であるとの報告がある。SCCKN、SASにおいてMcl-1-siRNAをtransfectionした後、核の凝集を認めた。その際、cleaved-caspase-3が発現しており、アポトーシスが誘導されていることが確認された。
5. SCCKN、SASにMcl-1-siRNAをtransfectionすることで、FAK (Focal adhesion kinase)のリン酸化が抑制され、その結果、シグナル伝達の下流に位置するMAPKの活性化も抑制された。通常、FAKのリン酸化の抑制は細胞接着に関

与する integrin を介しておこなわれるが、ウエスタンブロッティングにて integrin α 、 β の発現量を調べたが変化は認められず、細胞形態もアノイキス（突起を失い球形に変化し細胞間の接着が阻害され浮遊細胞が多く認められる状態）を起こしている様子は観察されなかった。以上より Mcl-1-siRNA は integrin を介して FAK のリン酸化を抑制するのではなく、直接 FAK のリン酸化を抑制することにより MAPK 経路を抑制し、その結果、細胞増殖抑制を起こしていることが示唆された。

6. SCCKN、SAS において Mcl-1-siRNA と抗癌剤を併用することで単独の場合と比較して有意に細胞増殖抑制が起きることが確認された。

【結語】

今回我々は Mcl-1-siRNA を用いることで Mcl-1 が舌扁平上皮癌においてアポトーシス抑制分子として働いていること、また、MAPK 経路を介して細胞増殖に関わっていることを証明した。このことより、Mcl-1 は癌細胞増殖抑制の新たなターゲットなりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では口腔扁平上皮癌を用いて Mcl-1 の役割について検討した。Mcl-1 の癌部での発現を確認し、Mcl-1-siRNA で癌細胞の増殖が抑制されることを明らかにした。さらに抗癌剤と Mcl-1-siRNA の併用により、著明な癌細胞の増殖抑制を確認した。

本研究は、今後の癌治療に関する研究に対し有用な基礎的情報を提供するものであり、博士（歯学）の学位申請に値するものである。