

| | |
|--------------|---|
| Title | 扁平上皮癌におけるAquaporin 3の役割 |
| Author(s) | 草山, 守生 |
| Citation | 大阪大学, 2010, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/57607 |
| 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

| | |
|------------|--|
| 氏名 | くまやまもりお生 草山守生 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(歯学) |
| 学位記番号 | 第 23723 号 |
| 学位授与年月日 | 平成22年3月23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 | 扁平上皮癌におけるAquaporin3の役割 |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 由良 義明 准教授 西村 理行 准教授 和田孝一郎 |

論文内容の要旨

【目的】

Aquaporin(AQP)は、赤血球膜から細胞膜の水輸送を促進する膜タンパク質として発見され、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。現在、哺乳類で13種類のAQPが確認され、浸透圧に応じた水輸送のみならず、グリセロールや尿素の透過、細胞接着や細胞遊走など多くの機能があることが分かってきている。AQPファミリーの一つであるAQP3は、グリセロールと水を輸送する水チャネルタンパク質で、腎臓・皮膚・膀胱・消化管など多くの組織に分布している。最近の研究により、AQP3が皮膚、肺、前立腺など種々の癌細胞に高発現しているとの報告がされている。しかし癌細胞におけるAQP3の役割についての報告はほとんどない。そこで私は、AQP3の扁平上皮癌における役割について検討した。

【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、外科的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施行していない高分化型、中等度分化型、低分化型の舌扁平上皮癌組織を各々10例、合計30例をランダムに選出し、AQP3の免疫組織化学染色を行った。その発現強度を0~3の4段階で評価し、ダブルブラインドによりスコア化した。また、転移リンパ節についても免疫組織化学染色によるAQP3の発現確認を行った。
2. 培養細胞を用いた検討では、乳児口唇組織由来のfibroblast、舌癌由来のSAS、食道癌由来のKYSE30及びKYSE70を用い、western blottingによりAQP3の発現を検討した。

3. Fibroblast、SAS、KYSE30において small interfering RNA (Si-RNA) を用いて AQP3 を特異的にノックダウンし、western blotting にて AQP3 の発現が抑制されているのを確認した。その後、一定時間培養した後 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. AQP3 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 western blotting 法により検討した
5. AQP3 阻害による癌治療への臨床応用として、AQP3-siRNA と既存の抗癌薬との併用効果についても検討した。

【結果と考察】

1. AQP3 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に比べ高分化扁平上皮癌では AQP3 の発現を強く認め、転移リンパ節についても AQP3 の発現を認めた。またこの現象は、食道癌においても認められた。
2. 扁平上皮癌培養細胞である SAS、KYSE30 では著明な AQP3 の発現を認めたが、KYSE70、fibroblast での発現は弱かった。これらのことにより AQP3 を高発現している細胞では、AQP3 が細胞増殖に重要な役割を果たしていることが示唆された。
3. SAS、KYSE30 においては、AQP3-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. SAS、KYSE30 に AQP3-siRNA を transfection することで、FAK (Focal adhesion kinase)のリン酸化が抑制され、その結果として、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。さらに AQP3-siRNA による FAK のリン酸化抑制のメカニズムを検討するため、癌の増殖、浸潤、転移において重要な役割を果たしている細胞接着因子の integrin ファミリーの発現について検討した。その結果、western blotting にて integrin $\alpha 5$ 、 $\beta 1$ の発現抑制が確認された。以上より AQP3-siRNA は integrin 発現抑制を介して FAK のリン酸化を阻害することにより 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。
5. Cisplatin と AQP3-siRNA を併用した場合、KYSE30 において AQP3-siRNA 単独、Cisplatin 単独を処置したものと比較して、有意に細胞増殖を抑制した。このことから、AQP3 が高発現している扁平上皮癌において、その発現の抑制は化学療法薬の効果を増強する可能性が示唆された。

【結語】

扁平上皮癌組織、培養癌細胞において AQP3 が高発現していることを確認し、AQP3 が細胞増殖に重要な役割を果たしていることを明らかにした。そのメカニズムとしては、細胞接着による MAPK 経路の活性化を介して、AQP3 が癌細胞増殖に関わっていることを示した。このことより、AQP3 は扁平上皮癌細胞の新たなターゲットになりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では扁平上皮癌を用いて Aquaporin 3 (AQP3) の役割について検討した。AQP3 の癌部での発現を確認し、AQP3-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 cisplatin と AQP3-siRNA を併用することにより、著しく癌細胞の増殖が抑制されることを示した。

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。