

学位論文抄録

口腔扁平上皮癌における癌幹細胞関連分子Nucleostemin, Notch1の発現と機能解析
(Investigation of the expression of cancer stem cell related molecules, Nucleostemin
and Notch1, and their roles in oral squamous cell carcinoma)

吉田 遼 司

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻顎口腔病態学

指導教員

篠原 正徳 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻顎口腔病態学

伊藤 隆明 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻機能病理学

学位論文抄録

【目的】近年、様々な腫瘍で癌幹細胞 (cancer stem cell; CSC) の存在やそのマーカー、および制御に関わる多くの CSC 関連分子が報告されつつある。しかし、口腔扁平上皮癌 (OSCC) において、病理組織標本を用いてそれらの発現様式の変化を観察、あるいは機能解析を行なった報告は少ない。本研究では OSCC の発生過程における癌幹細胞関連分子 Nucleostemin および Notch1 の発現様式を明らかにするとともに、*in vitro* の実験からこれらの分子の OSCC における機能について検討した。

【方法】種々の口腔扁平上皮組織標本を用いて Nucleostemin と Ki-67 の免疫染色を行った。次に OSCC 培養細胞株における Nucleostemin の発現を確認し、OSCC 培養細胞株 SAS 細胞に siRNA を導入して機能解析を行なった。また、Ca²⁺ 依存性の培養細胞の角化誘導実験を行い、OSCC 培養細胞の分化と Nucleostemin の関係を検討した。Notch1 については、同様な組織標本を用いて Notch1 とそのリガンドの Jagged1 (JAG1) の免疫染色を行った。また、ラット舌発癌モデルを用い、Notch1 の発現変化を観察した。OSCC 培養細胞株における Notch1 の発現を確認し、SAS 細胞に Notch signaling 活性化の阻害剤を添加、あるいは siRNA を導入して機能解析を行なった。さらに、Notch1 と Laminin5 γ 2 chain (L5 γ 2) の免疫染色を行い、OSCC 培養細胞の遊走能、浸潤能と Notch signaling との関連について組織および *in vitro* で検討した。

【結果】Nucleostemin は組織標本上で様々な分化段階の細胞に発現していたが、その陽性率は病変の進行とともに増加し、Ki-67 陽性率と正の相関関係を認めた。OSCC 培養細胞では全ての細胞で Nucleostemin の発現が認められ、siRNA 導入によって癌細胞の増殖活性は顕著に抑制された。また、角化誘導実験では OSCC 培養細胞の分化と Nucleostemin の発現量に相関関係は認めなかった。Notch1 と JAG1 は扁平上皮癌で高頻度に発現し、OSCC 培養細胞でも Notch1 やその関連分子が発現していた。Notch signaling を阻害すると細胞増殖活性が抑制された。L5 γ 2 と Notch1 には相関関係があり、*in vitro* における機能解析で TNF- α 依存性の癌細胞の浸潤能は Notch signaling の阻害によって減弱した。

【考察】Nucleostemin は癌細胞の増殖活性維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。しかし、角化誘導実験や正常組織における発現プロファイルからは、口腔扁平上皮においては CSC 特異的な分子ではないものと考えられた。Notch1 は腫瘍組織で高頻度に発現しており、その局在は腫瘍浸潤先端に高い傾向にあった。*in vitro* の実験結果から、Notch1 は腫瘍細胞の増殖活性維持や遊走、浸潤能の制御を介して OSCC の維持に関与する可能性が考えられた。

【結論】癌の成り立ちを考えると、単一分子の制御のみで CSC を含め癌細胞のコントロールが可能であるとは考えにくい。種々の CSC 関連分子の研究が進んでいる現在、これらの関連分子への様々な角度からの知見が統合されることで OSCC の研究が進展し、治療へのアプローチが発展すると考えられた。