

Title	Parathyroid-related protein plays a critical role in bone invasion by oral squamous cell carcinoma
Author(s)	高山, 裕樹
Journal	歯科学報, 111(5): 514-515
URL	http://hdl.handle.net/10130/2627
Right	

氏名(本籍)	たかやまゆうき 高山裕樹 (千葉県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1829号(甲第1100号)
学位授与の日付	平成21年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Parathyroid-related protein plays a critical role in bone invasion by oral squamous cell carcinoma
掲載雑誌名	INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY 第36巻 1387~1394頁 2010年
論文審査委員	(主査) 柴原 孝彦教授 (副査) 山根 源之教授 井上 孝教授 東 俊文教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

歯肉癌(扁平上皮癌)は解剖学的に顎骨に近接し強い局所浸潤能を有しているため、容易に顎骨吸収を惹起するといわれている。しかしこの顎骨浸潤のメカニズムは未だ十分に解明されておらず、臨床への指標も導かれていない。我々はこれまで、マウス口腔扁平上皮癌の細胞株 SCCVII を移植して顎骨浸潤動物モデルを確立し、その実験系より顎骨浸潤は腫瘍が直接骨を破壊するのではなく、腫瘍が産生するサイトカインが破骨細胞を活性化させ骨吸収を起こすことを報告した。臨床症例から歯肉癌の顎骨浸潤では、Parathyroid hormone-related protein (PTHrP), TGF- β が重要な因子であることを示したが、その機能解析についてはいまだ不明である。そこで、本研究の目的は SCCVII の動物モデルを用いて PTHrP, TGF- β の役割を明確にして、口腔扁平上皮癌による顎骨浸潤の分子メカニズムを分析することである。

2. 研究方法

SCCVII 移植の顎骨浸潤動物モデルを用いて、qRT-PCR, 免疫染色(蛍光抗体法)を行い PTHrP の mRNA・タンパクレベルの発現を検証した。続いて SCCVII に対して RNAi レトロウイルスベクターを用いて、PTHrP の発現を恒常的にノックダウンした2種類の SCCVII を作成した。PTHrP ノックダウンの影響が顎骨浸潤にどのように影響するかを分析するために、in vitro にて osteoclast formation assay, in vivo にて移植動物モデルの形態計測を行った。加えて PTHrP の発現を増強する transforming growth factor- β (TGF- β) が SCCVII に対してどのような影響があるのかを検証した。歯肉癌の臨床症例(18例)における骨浸潤部周囲の免疫組織学的検証(CD68, PTHrP)も行った。

3. 研究成績および結論

SCCVII 移植動物モデルでは PTHrP の高発現が示された。osteoclast formation assay においては、PTHrP の発現抑制により破骨細胞形成も抑制され、PTHrP 発現レベルに相当した破骨細胞数の減少が示された。動物モデルにおいても PTHrP ノックダウンの影響により顎骨浸潤が抑えられた。動物モデルでの顎骨浸潤抑制は PTHrP の発現抑制よりもより有意に抑えられていた。TGF- β は SCCVII に対して PTHrP の産生を増加させたが、腫瘍細胞の増殖には影響を与えなかった。免疫組織学的検討において歯肉癌顎骨浸潤症例で顎骨浸潤部において、腫瘍の PTHrP の産生、破骨細胞の活性化がみられた。

以上の結果より、腫瘍が産生する PTHrP は口腔扁平上皮癌の骨浸潤に重要な働きを担うとともに、TGF- β との相乗作用によって顎骨浸潤を促進している可能性が示唆された。

論文審査の要旨

歯肉癌(扁平上皮癌)は解剖学的に顎骨に近接し強い局所浸潤能を有しているため、容易に顎骨吸収を惹起するといわれている。しかしこの顎骨浸潤のメカニズムは未だ十分に解明されておらず、臨床への指標も導かれていないのが現状である。

本研究では歯肉癌における顎骨浸潤に Parathyroid hormone-related protein(PTHrP)と TGF- β が関与していると考え、我々が樹立した SCCVII 細胞実験系を用い、RT-PCR、免疫蛍光染色によって PTHrP と TGF- β の発現を検討した。PTHrP に対してはノックダウン細胞株も作製して in vitroでの osteoclast formation assayおよび in vivoにおける移植実験によりその機能を検索した。TGF- β による SCCVIIへの影響、さらに臨床例においても両者の免染による検証を行った。その結果、腫瘍が産生する PTHrPは口腔扁平上皮癌の骨浸潤に重要な働きを担うとともに、TGF- β との相乗作用によって顎骨浸潤を促進している可能性を示した。

本審査委員会では、1) SCCVII移植群における PTHrP発現の評価、2) in vitroでの osteoclast formation assay測定法の妥当性、3) in vivoにおける移植実験の仕方、4) TGF- β による SCCVIIへの影響、5) SCCVIIの EMT現象の信憑性、などについて質疑が行われ、概ね妥当な回答が得られた。今後は、その他のサイトカインによる歯肉癌細胞への影響などを検討するよう要望がなされた。

本研究で得られた結果は、歯学(口腔外科学)の進歩、発展に寄与するところ大であり学位授与に値するものと判定した。