

## 口腔扁平上皮癌における腫瘍関連抗原RCAS1の発現と アポトーシス誘導能についての検討

田中, 秀明

<https://doi.org/10.15017/1441162>

---

出版情報：九州大学, 2013, 博士（歯学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：全文ファイル公表済

区分	甲 乙
----	-----

論文題目 口腔扁平上皮癌における腫瘍関連抗原 RCAS1 の発現と

アポトーシス誘導能についての検討

氏名 田中 秀明

### 論文内容の要旨

RCAS1 ( receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells ) は子宮腺癌由来細胞株 SiSo に発現する腫瘍関連抗原として同定され、今までに子宮頸癌を含む 15 種類の悪性腫瘍での発現が報告されている。発現動態として、細胞膜に発現する膜型 RCAS1 と、ectodomain shedding 機構によって分離される分泌型 RCAS1 が存在することが分かっている。また RCAS1 が、活性化したリンパ球のアポトーシスを誘導し、免疫監視機構からの回避に関与することが知られている。臨床的には、いくつかの癌において健常者と比較して癌患者の血清中に高濃度の RCAS1 が検出され、さらに治療後にその濃度が有意に減少したことから、RCAS1 がバイオマーカーとしても有用であるという知見も得られている。

これまでに当教室では、口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma: OSCC) 生検組織における RCAS1 の発現に関する報告をしたが、渉猟し得た限りでは、OSCC における分泌型 RCAS1 については検討されておらず、さらにはリンパ球へのアポトーシス誘導能に関しても不明な点が多い。そこで本研究では、OSCC 由来細胞株における膜型および分泌型の 2 つの発現動態について検討した。さらにその結果をもとに、OSCC における RCAS1 のアポトーシス誘導能の解析と、発現動態がアポトーシス誘導能に及ぼす影響について検討した。

以下に本研究で得られた結果をまとめた。

#### 1. OSCC 細胞株における RCAS1 発現動態の解析

本研究では OSCC 細胞株 (HSC-2、HSC-3、SQUU-A、SQUU-B) を使用した。まず RCAS1 の発現を、RT-PCR 法と免疫細胞化学的染色法を用いて解析した。その結果、全ての OSCC 細胞株において RCAS1 mRNA および蛋白の発現を認めた。次に、OSCC 細胞株における膜型 RCAS1 の発現を flow cytometry を用いて、各細胞の培養上清中の分泌型 RCAS1 を dot blotting と enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いて解析した。膜型 RCAS1 は全ての OSCC 細胞株において発現しており、特に高転移株 SQUU-B において他 3 種の細胞と比較して有意に強く発現していた ( $p<0.05$ )。また、分泌型 RCAS1 は全ての OSCC 細胞株の培養上清中に検出され、特に SQUU-B の培養上清中に有意に高濃度に検出された ( $p<0.05$ )。

#### 2. OSCC 細胞株における RCAS1 のアポトーシス誘導能の解析

4 種類の OSCC 細胞株と RCAS1 受容体を有する赤芽球様白血病由来細胞株 K562 との共培養を行い、flow cytometry を用いて K562 に対する RCAS1 のアポトーシス誘導能を解析した。その結果、全ての OSCC 細胞株との共培養により K562 のアポトーシスが誘導された。次に誘導されたアポトーシスが RCAS1 依存性であるかを検証するため、最もアポトーシスを誘導していた SQUU-B に RCAS1 siRNA の遺伝子導入を行った。RCAS1 をノックダウンさせた細胞株と K562 を共培養した結果、K562 に対するアポトーシス誘導の著明な減弱が認められた。さらに細胞非接触環境下で SQUU-B と K562 の共培養を行い、RCAS1 の発現動態がアポトーシス誘導能へ及ぼす影響について検討した。その結果、分泌型 RCAS1 単独による K562 のアポトーシスが誘導された。

#### 3. OSCC 患者血清中の分泌型 RCAS1 の解析

OSCC 患者 7 例と健常者 7 例の血清中 RCAS1 濃度を、ELISA を用いて解析した。健常者と比較して、分泌型

RCAS1 は OSCC 患者において高濃度に検出されたが、有意差は認められなかった。次に、OSCC 患者 2 例における治療前後の血清中 RCAS1 濃度の推移を解析したが、明らかな相関関係は認められなかった。

以上の結果より、RCAS1 は OSCC において膜型および分泌型として発現しており、K562 にアポトーシスを誘導するにより、生体内で免疫監視機構から回避する可能性が示唆された。また、分泌型 RCAS1 は OSCC における腫瘍特性を表現するバイオマーカーである可能性が示唆された。

