

口腔扁平上皮癌におけるprotease-activated receptor 1の発現と機能に関する研究： Δ Np63を介した上皮間葉転換との関連

服部, 多市

<https://hdl.handle.net/2324/4110460>

出版情報 : Kyushu University, 2020, 博士 (歯学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 服部 多市

論 文 名 : 口腔扁平上皮癌における protease-activated receptor 1 の発現と機能に関する研究
～ Δ Np63 を介した上皮間葉転換との関連～

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

近年、癌の浸潤・転移に上皮-間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) が深く関与することが明らかとなってきた。これまでに我々は、口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma: OSCC) の浸潤先端部で Δ Np63 の発現が減弱することにより EMT が誘導されることを報告した。またその際に、浸潤先端部の癌細胞で thrombin 受容体である protease-activated receptor (PAR) 1 が強く発現していることを見出した。さらに、OSCC 細胞で Δ Np63 をノックダウンすると、PAR1 の発現が増強していたことから、癌細胞での EMT 誘導に PAR1 シグナルが関与していることが示唆された。しかしながら、EMT における PAR1 の役割や Δ Np63 との関わりについての詳細は不明であった。そこで本研究では、OSCC 生検標本における PAR1 の局在を検索し、その発現様式と臨床病理学的所見や予後との関連を明らかにするとともに、 Δ Np63 を介した EMT における PAR1 の機能について解析を行った。

1. OSCC 生検標本における PAR1 の免疫組織化学的検討

OSCC 生検標本 116 例における PAR1 の発現を免疫組織化学的に検索した。まず腫瘍細胞に着目して PAR1 の発現を観察すると、発現が全く認められない症例から、ほとんどすべての細胞で発現しているものまで様々であった。また、一部の症例では癌巣を取り囲む間質細胞にも PAR1 の発現を認めた。これらの PAR1 の発現様式から全症例を、Group A: 腫瘍細胞および間質細胞がともに陰性、Group B: 腫瘍細胞が陰性かつ間質細胞が陽性、Group C: 腫瘍細胞および間質細胞がともに陽性の 3 群に分類した。そこで、PAR1 の発現様式と臨床病理学的所見との関連について検討したところ、Group C は、Group A および B と比較して組織学的悪性度の高い症例が多く、頸部リンパ管転移の発生頻度が有意に高かった。また、頸部リンパ管転移の発生要因となり得る因子についてロジスティック回帰分析による多変量解析を行ったところ、PAR1 の発現様式にのみ統計学的有意差を認め、Group C では Group A と比較して頸部リンパ管転移の発生リスクが有意に高かった。疾患特異的累積 5 年生存率は Group A が 97.8%、Group B が 93.3%、Group C が 79.8%であった。さらに、浸潤先端部の腫瘍細胞における thrombin と Δ Np63 の発現を検索したところ、Group A では thrombin の発現は認められなかったが、 Δ Np63 は強く発現していた。一方、Group C では thrombin の発現は強かったものの、 Δ Np63 の発現強度は逆に減弱しており、PAR1 の発現は Δ Np63 の発現と逆相関していた。

2. OSCC 細胞株における PAR1 の発現と機能に関する研究

本研究では、5 種類の OSCC 細胞株 (低転移株: HSC-2、HSC-3、SQUU-A、SAS、高転移株: SQUU-B) とヒト正常角化上皮細胞株 (HaCaT) を用いた。また、SQUU-B 細胞に Δ Np63 β を過剰発現させた SQUU-B0 細胞と empty vector を導入した SQUU-BC 細胞も使用した。まず Δ Np63、PAR1 および thrombin の発現を RT-PCR 法にて検索したところ、SQUU-B 細胞では Δ Np63 の発現は低く、PAR1 と thrombin の発現は高かった。一方、低転移株と SQUU-B0 細胞では Δ Np63 の発現は高いものの PAR1 と thrombin の発現は低かった。そこで、SQUU-A 細胞を用いて Δ Np63 をノックダウ

ンすると、PAR1 と thrombin の発現が増強した。さらに、SQU-B 細胞で PAR1 をノックダウンしたところ、上皮系マーカーである E-cadherin、cytokeratin (CK) 5、CK14 の発現量増加、間葉系マーカー (vimentin、N-cadherin、fibronectin) および EMT 関連因子 (ZEB1、ZEB2、snail、slug、twist) の発現量減少を認め、遊走能と浸潤能が著明に抑制された。

以上の結果から、 Δ Np63 の発現減弱により、PAR1 シグナルが活性化することで EMT が誘導され、OSCC の運動能が亢進するものと考えられた。