

論文審査の結果の要旨

氏名：野 本 翔 太

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：子宮筋腫組織を用いた新たな癌の *in vitro* 浸潤モデルの確立

審査委員：（主査） 教授 米 原 啓 之

教授 大 木 秀 郎

教授 前 野 正 夫

教授 小 宮 山 一 雄

癌の浸潤や転移を解明するため、現在までにさまざまな *in vitro* および *in vivo* における実験モデルが作製されおよび病理組織学的な検索が行われてきた。*In vitro* 実験では、I型コラーゲンと線維芽細胞より作製したコラーゲンゲルを用いた3次元器官モデルによる研究が行われてきた。浸潤・転移機構について、癌細胞の上皮間葉転換 (EMT) や、腫瘍関連線維芽細胞の存在が注目されている。本研究では、口腔癌の浸潤・転移機構を解明する目的で、ヒトの生体内により近い環境を再現するため、ヒト子宮筋腫組織片 (myoma disk) を用いて新たな3次元器官培養モデルを確立することを目指した。

癌細胞として、ヒト舌扁平上皮癌由来細胞株 (HSC-3)、ヒト歯肉扁平上皮癌由来細胞株 (Ca9-22) および SLPI を発現しない NUSD-1 細胞を、用いて検討を行った。Myoma disk は、直径 8mm の生検トレパンで調整し、使用時まで凍結保存した。Myoma disk をトランスウェルインサート内に入れ、癌細胞を含んだ培地を myoma disk 上に滴下し、一晚 CO₂ インキュベーター内で定着させた。翌日、myoma disk を 12 ウェルプレート内に置いたグリッドのナイロンメッシュ上へ移し、培地を加え、CO₂ インキュベーターで培養した。培地は3日ごとに交換を行った。培養3, 7, 14日目ごとに、myoma disk を取り出し、固定・包埋を行い薄切切片を作成した。病理組織学的観察は、HE 染色および cytokeratin AE1/AE3, 抗 vimentin, 抗 MMP-2, 抗 MMP-13 の各免疫染色を施して評価を行った。また、MMP の発現について、RT-PCR 法および gelatin zymography 用いて検索した。その結果、以下の結論を得た。

1. Myoma disk を用いた口腔癌器官培養モデルで、癌細胞の浸潤・増殖の様子および腫瘍細胞の種類による浸潤様式の違いを確認することができた。
2. 器官培養7日目、14日目の組織標本において、Ca9-22細胞はmyoma disk内への浸潤を示したが、NUSD-1細胞はdisk上に重層するものの浸潤は示さなかった。
3. 本研究で用いた myoma disk 器官培養モデルは、悪性腫瘍の転移機構を解明する方法として非常に有用な方法であることを示した。
4. RT-PCR の結果より、Ca9-22細胞ではMMP-2遺伝子の発現を認めたが、NUSD-1細胞では同遺伝子の発現を認めなかった。
5. Gelatin zymography の結果より、Ca9-22細胞の培養上清にはMMP-2の活性を認めたが、NUSD-1細胞の培養上清にはMMP-2の活性は認めなかった。

以上のように、本研究はヒト子宮筋腫を用いた新たな器官培養モデルを確立し、その有用性を示したものであり、口腔外科学ならびに関連歯科臨床の分野に寄与するところがあるものと考えられた。

よって、本論文の著者は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められた。

以 上

平成27年3月11日