

論文審査の結果の要旨

氏名：高 村 剛

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：The role of secretory leukocyte protease inhibitor in oral squamous cell carcinoma cell migration
(分泌型白血球プロテアーゼインヒビターの口腔扁平上皮癌浸潤における役割)

審査委員：(主査) 教授 浅野正岳

(副査) 教授 大木秀郎

教授 今井健一

教授 鈴木直人

Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) は、セリンプロテアーゼインヒビターの1種であり、皮膚や粘膜の保護作用や、創傷治癒、上皮細胞の増殖など、生体内の様々な機能に関連している。SLPIは同時に、種々の癌細胞においても発現しており、その悪性化における機能については未だに明らかになっていない。そこで本研究では、腫瘍細胞の増殖能や移動能に対するSLPIの影響を検討し、腫瘍の悪性化におけるSLPIの役割について検索することを目的とした。

実験には、ヒト結腸腺癌由来 HT-29 細胞、ヒト口腔扁平上皮癌由来 Ca9-22 細胞および SLPI 遺伝子を欠損させた Ca9-22 (Δ SLPI Ca9-22) 細胞を用いた。 Δ SLPI Ca9-22 細胞について SLPI mRNA およびタンパク質レベルでの発現を real-time RT-PCR 法および western blotting 法により解析したところ、SLPI mRNA およびタンパク質発現は Δ SLPI Ca9-22 細胞においては全く認められなかった。そこで、これらの細胞を用いて、増殖能および移動能の違いについて比較した。wound healing assay により移動能について検討したところ、wtCa9-22 細胞と比較して、HT-29 細胞および Δ SLPI Ca9-22 細胞では顕著な移動能の低下を認めた。また、細胞増殖および DNA 合成については、それぞれの細胞間に顕著な差を認めなかった。また、それぞれの細胞間での遺伝子発現パターンの違いをマイクロアレイにより網羅的に解析し、発現量に変化が見られた遺伝子 (differentially expressed genes : DEGs) をスクリーニングした。これにより、SLPI の発現の有無あるいは発現の強弱に影響を受け、かつ、細胞増殖・移動能制御において重要な役割を担う候補因子の同定を試みた。さらに、DEGs について Gene Ontology (GO) 解析および KEGG pathway 解析を行った。

その結果、以下の結論を得た。

1. SLPI の発現程度が wtCa9-22>HT-29> Δ SLPI Ca9-22 の順であったことから、SLPI の発現量は細胞の移動度に関連している可能性が考えられた。
2. wtCa9-22 細胞と比較して HT-29 細胞および Δ SLPI Ca9-22 細胞で最も発現量が増加した遺伝子は、NADPH oxidase 1 gene (*NOX1*) および lymphocyte cytosolic protein 1 gene (*LCPI*) であった。
3. KEGG pathway 解析では、SLPI の metabolic pathways, cancer pathways, および PI3K-Akt signaling pathway への関与が強く示唆された。
4. cAMP signaling pathway においては、発現が減少した DEGs のみ含まれていたことから、SLPI はこのシグナル系に深く関与する可能性が示唆された。

本研究の結果は、SLPI が細胞の移動能を制御することによって腫瘍の悪性化や転移を「正」に制御していると考えられた。また、バイオインフォマティクスによる解析の結果、SLPI は cAMP signaling pathway の活性化による、glioma-associated oncogene family zinc finger (GLI) のリン酸化や LCPI の発現を誘導することによって、細胞移動能を増強する可能性が示唆された。以上の結果は、口腔癌細胞における SLPI の機能の一端を明らかにしたものであり、口腔腫瘍学および口腔病理学に貢献すること大なるものがあると考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以上

平成29年3月8日