

## 論文審査の結果の要旨

氏名：太田 裕 崇

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ニッケル投与による血管新生阻害を介した口腔扁平上皮癌増殖の抑制

審査委員：（主査） 教授 米原 啓之

（副査） 教授 佐藤 秀一

教授 浅野 正岳

教授 宮崎 真至

歯科治療に使用される合金の一種であるニッケルは、金属アレルギーや癌を誘発するなど、生体に対して有害な物質とされている。しかし、癌細胞の増殖を抑制したりアポトーシスを誘導するなどの報告もあり、その作用メカニズムや効果については未だ不明な点が多い。

口腔内に最も多発する悪性上皮性腫瘍は口腔扁平上皮癌 (OSCCs) である。OSCCs では転写因子である NF- $\kappa$ B が恒常的に活性化されており、その活性化は、癌の増殖、浸潤、転移や腫瘍血管の新生に関与するといわれている。Shionome らは、ニッケルイオンが NF- $\kappa$ B のサブユニットである p50 に直接結合し、核移行を阻害することで、IL-8 分泌を抑制することを明らかにした。Matrix metalloproteinase 9 (MMP9) は基底膜の主な成分である IV 型コラーゲンを基質としており、癌の浸潤に極めて重大な分子である。その発現が NF- $\kappa$ B に依存していることから、ニッケルイオンがその発現を抑制するのではないかと考え、以下の実験を行った。

実験にはヒト口腔扁平上皮癌細胞 (HSC3) およびそのサブクローンである HSC3-M3 を用いた。刺激に用いたニッケルイオンは塩化ニッケル (NiCl<sub>2</sub>) 水溶液として使用した。ニッケルイオン刺激は、細胞を 24-well plate (2 × 10<sup>5</sup> 個 / well) に播種し、これに 1 mM NiCl<sub>2</sub> を添加することにより行った。ニッケルイオンによる MMP9 の mRNA 発現をリアルタイム PCR 法で検討し、転写レベルでの発現調節についてはルシフェラーゼアッセイで検討した。さらに HSC3 をヌードマウスに接種することで舌癌を発症させる *in vivo* モデルを作製し、1 mM NiCl<sub>2</sub> を含有させた水を与えて飼育し、腫瘍組織の MMP9 発現の変化を免疫染色にて検討した。また、癌の抑制について、1 mM NiCl<sub>2</sub> を含有させた水を与えて飼育し CT 撮影および組織学的検索を行い、血管新生因子である IL-8 と VEGF の mRNA 発現についてリアルタイム PCR 法にて検討した。所属リンパ節への癌細胞の転移については、ヒト  $\beta$  グロビン遺伝子を nested-PCR 法で検出することにより評価した。その結果、以下の結論を得た。

1. ニッケルイオン刺激により MMP9 の mRNA 発現がコントロールと比較して約 25% に低下した。
2. ニッケルイオン刺激により MMP9 プロモーターのルシフェラーゼ活性が約 70% に低下した。
3. 免疫染色では腫瘍組織において MMP9 発現が著明に減少した。
4. CT 像および組織学的検索では、ニッケルイオンによって腫瘍組織の内部に広範な壊死領域が形成されることが明らかとなった。
5. 血管新生因子である IL-8 mRNA は約 0.01%、VEGF mRNA は約 60% に低下した。
6. ニッケルイオン刺激によりリンパ節において、ヒト  $\beta$  グロビン遺伝子の発現が著明に減少した。

以上のように、本研究によってニッケルイオンが腫瘍細胞の増殖や進展を抑制する可能性が示唆された。これはニッケルイオンが新たな癌治療薬として応用し得る可能性を示唆するものであり、臨床向きを意味する有意義な結果であると考えられた。NF- $\kappa$ B 活性の抑制により癌の増殖を制御しうることを示した点は、口腔腫瘍病変の生化学的および病理学的理解に貢献するところ大なるものと考えられた。

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