

論文審査の結果の要旨

氏名：中山 竜司

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：The epigenetic regulation of CXCL14 plays a role in the pathobiology of oral cancers
(CXCL14のエピジェネティクス制御機構は口腔癌の病態生理に関与する)

審査委員：(主査) 教授 近藤 壽郎
(副査) 教授 岡田 裕之
教授 三枝 禎
教授 渋谷 鑠

癌は遺伝子異常に加えて、様々なエピジェネティクス異常が蓄積して生じる。癌細胞で遺伝子異常が発現するのはDNAメチル化、ヒストン修飾、クロマチン構造の変化を含むエピジェネティクス異常によるものと考えられる。癌抑制遺伝子の発現が不活化される主な原因の一つがDNAの異常メチル化であることが明らかになっている。DNAのメチル化を正確に解析することは個体発生や細胞分化の仕組みの解明、種々の疾患の本態解明に重要であるだけでなく、疾患の正確な診断にも有用となる。また、上皮増殖因子受容体(EGFR)の異常な活性化が癌の増殖や浸潤、血管新生、転移を引き起こすことが知られている。一方、癌抑制作用を示すケモカインであるCXCL14は、種々の細胞により合成され、血管新生の阻害、腫瘍の増殖および進展抑制に関与していることが報告されている。

癌の主な治療法は手術療法、化学療法、放射線療法であるが、超高齢社会を迎え、合併症など全身的条件で手術、化学療法の適応外となり放射線治療を選択する症例の増加が見込まれる。放射線治療は放射線の電離作用により主に細胞内の H_2O をイオン化して短寿命の活性酸素(ROS)を産生させる。産生されたROSがDNAに作用することからDNAの損傷を起こす。また、放射線照射によりリンパ球の遊走化に関連しているLate Cornified Envelope (LCE) 遺伝子が誘導されることが明らかになっている。

申請者の研究は、口腔癌におけるCXCL14のDNAメチル化、放射線照射の影響とエピジェネティクス制御機構の病態生理について検討しているものである。これまで、ヒトCXCL14のメチル化およびCXCL14とEGFRの関連性について報告されておらず、申請者は、ここに着目している。申請者は、ヒト口腔扁平上皮癌標本を材料として免疫組織学的染色を行った。また、癌細胞株を用いて、real-time PCR法、メチル化特異的PCR法、バイサルファイトシーケンシングPCR法によるDNAメチル化解析をしている。CXCL14タンパク質は、腫瘍に隣接する健常組織細胞質内に発現を認めた。CXCL14の発現と、T分類、臨床病期ならびにリンパ節転移に有意な相関がみられることを導き出した。EGFRの発現は異形上皮で発現しており、腫瘍組織ではさらに高発現となることが認められた。また、腫瘍細胞ではCXCL14遺伝子のプロモーター領域の異常メチル化が認められた。5-aza-2-deoxycytidineを投与することで、CXCL14発現の回復が誘導されることも確認している。そのうえで、放射線照射後の動態を確認することを目的として、*in vivo*におけるヌードマウス皮下移植腫瘍に対する放射線照射後の組織内CXCL14の発現について、real-time PCR法および免疫組織学的染色で解析をしている。さらに*in vitro*および*in vivo*において、放射線照射による細胞内ROSおよびLCEの解析をreal-time PCR法および蛍光染色を行っている。*in vitro*および*in vivo*において、放射線照射によりROS産生が誘導され、LCE遺伝子発現の増加およびCXCL14の回復を明らかにした。

これらの事実から、申請者の考察のとおり、腫瘍細胞でのCXCL14とEGFRの発現に逆相関を確かなものとし、CXCL14の発現は、腫瘍抑制に効果があることが示された。放射線照射により発現するLCE遺伝子はCXCL14の新たなターゲットであり、CXCL14の発現を通じて腫瘍抑制機能を有している可能性を示したと言える。

申請者の研究はCXCL14のメチル化の作用機序に関する研究により癌の早期発見早期診断、再発転移のリスク診断などに貢献すると判断した。

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 2 9 年 1 0 月 2 6 日