

柴原清隆 論文内容の要旨

主 論 文

Gene Expression Analysis of a Highly and a Low Metastatic Cell Line derived from Human Oral Squamous Cell Carcinoma based on cDNA Microarray

(cDNA マイクロアレイに基づいたヒト口腔扁平上皮癌の高転移株と低転移株の遺伝子発現解析)

柴原清隆、池田久住、藤澤昭彦、上原雅隆、井口次夫

掲載雑誌 Oral Medicine & Pathology (in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：井口次夫教授)

緒 言

扁平上皮癌は口腔悪性腫瘍の中で最も発生頻度が高く、しばしば頸部リンパ節への転移を起こす。癌の転移は **survival outcome** を決定する因子の一つであり、これまで口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関する臨床病理学的、あるいは分子生物学的な **approach** が試みられている。また、同じ扁平上皮癌でも転移能に差があることも知られているが、そのメカニズムの詳細は明らかにされていない。近年、転移能と遺伝子の関連を検討した報告が膵臓癌や食道癌などで見られる。そこで口腔癌の転移能に関与する可能性のある遺伝子について解析するため本研究を企画した。

対象と方法

対象：当研究室で培養中のヒト口腔扁平上皮癌細胞 NB-1

方法：ヒト口腔扁平上皮癌細胞の親株 NB-1 より限界希釈法にてクローンを 36 株作製した。それぞれにおいて migration assay による in vitro selection 法を行い高、低遊走株を選別し、ヌードマウスへの同所性移植を行い転移能を確認し、高転移株 NB-1 HIG-1 および低転移株 NB-1 LOW-1 を選別した。両細胞株より mRNA を抽出し、cDNA マイクロアレイ (GeneChip Human Focused Array) にて 8797 個の遺伝子発現を解析した。両株で最も発現に差が現れた 2 遺伝子についてはリアルタイム PCR にて定量的に発現を比較した。

結 果

migration assay にて高い遊走能を示した NB-1 HIG-1 はヌードマウスへの移植にて全例リンパ節転移を認めた。一方低い遊走能を示した NB-1 LOW-1 は低い転移能を持っていた。cDNA マイクロアレイにて両株間で最も遺伝子発現の差が大きかった *CGA* と *SPP1* についてはリアルタイム PCR にて発現の差を確認したところマイクロアレイと同様の結果が得られた。その結果、50 個の遺伝子に有意な発現の差が認められたが、

癌の転移に関連するとの報告がある遺伝子では、低転移株において *IGFBP7* と *TGFBR3* という遺伝子が、高転移株において *SPP1*、*LAMA4*、*MMP-2*、*CTSD*、そして *CLDN1* が強く発現していた。

考 察

低転移株で強く発現した *IGFBP7* と *TGFBR3* は細胞増殖に関連した遺伝子であり、細胞増殖を抑制することで癌細胞の転移を抑制した可能性がある。一方、高転移株では *SPP1* および *LAMA4*、*MMP-2* と *CLDN1*、そして *CTSD* が強く発現していた。*SPP1* および *LAMA4* は細胞接着に関与しており、高く発現することは原発巣あるいは転移巣で癌細胞が生き残るために有利である可能性がある。高転移株 NB-1 HIG-1 は細胞同志が密着しながら増殖していくタイプであり、細胞接着能が高いことを示唆している。*MMP-2* と *CLDN1* は基底膜の構成成分であるタイプIVコラーゲンを分解していくことで癌細胞の進展を促進していると思われる。また、*CTSD* は細胞増殖を促進することで癌細胞の転移を促進した可能性がある。これらの遺伝子が口腔扁平上皮癌細胞株において癌の転移を抑制あるいは促進した可能性がある。また、低転移株において最も差が大きく発現した *CGA1* はホルモン分泌に関連した遺伝子で癌の転移に関する報告はまだなく今後の研究が望まれる。マイクロアレイは遺伝子スクリーニングの手法であるため、これらの遺伝子が癌細胞の転移に関連していることを証明するために、gene transfection や RNAi 等の gene silencing といった癌細胞における遺伝子機能解析が必要であると思われる。

以上