

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	嶋 根 哲
論文審査担当者	主 査 本田 孝行教授 副 査 宇佐美 真一教授・小泉 知展教授
論文題目	
Clinical Significance of apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain in Oral Squamous Cell Carcinoma (ASCの口腔扁平上皮癌における臨床的有用性について)	
(論文の内容の要旨)	
<p>【背景】口腔扁平上皮癌 (OSCC) は 2008 年には世界的に 263,900 人が新規に罹患し 128,000 人が死亡したことが報告された。診断や治療の改善にもかかわらず 5 年生存率は依然として 60%を下回る状況である。予後の改善には、OSCC の進展や転移を正確に診断するための分子マーカーが重要である。apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC)は Masumoto らにより HL-60 細胞にアポトーシスを誘導する際に細胞質に形成されるタンパク質として同定され、炎症と細胞死に関係していることが示唆された。ASC は癌抑制遺伝子様に作用することも報告され、大腸癌、前立腺癌と悪性黒色腫では ASC 領域の DNA のメチル化が報告された。これらの所見から、ASC 発現と癌の予後との関連も示唆されている。そこでわれわれは OSCC における ASC 発現とその臨床的意義について検討を行った。また、ASC 発現とアポトーシスおよび分化との関連について検討を加えた。</p> <p>【方法】1. <i>in vivo</i> 対象は 1990~2005 年に信州大学医学部附属病院特殊歯科・口腔外科にて OSCC と診断された未治療例 119 例。抗 ASC 抗体により免疫組織化学的手法 (IHC) により病理組織切片上の ASC 陽性細胞数を算出し、同症例の臨床病理学的所見 (性別、年齢、T 分類、N 分類、病期、原発部位、病理学的分化度、リンパ細胞浸潤、浸潤様式) および予後 (5 年生存率) との関連を統計的に解析 (単変量および多変量解析) した。また、ASC 発現と上皮細胞の分化との関連を明らかにするため、ASC および粘膜上皮細胞の分化マーカーである <i>involucrin</i> (IVL) 発現を IHC と蛍光抗体法により染色し、比較検討を行った。加えて、ASC とアポトーシスとの関連を検討するため、アポトーシス発現状況を TUNEL 染色で調べ、ASC 発現状況との比較検討を行った。</p> <p>2. <i>In vitro</i> ASC と分化との関連を検討するために以下の実験を行った。正常細胞における分化前後での ASC の変化を検討するために正常ヒト角化細胞 (NHEK) と不死化ヒト角化細胞 (HaCaT) を用い分化誘導を行った。NHEK と HaCaT の分化前、分化後 1 日目と 2 日目の mRNA とタンパク質を採集し、ASC と IVL の mRNA 発現を定量的 PCR でタンパク質発現とを western blot 法でそれぞれ検討した。また正常細胞と口腔癌細胞株での比較を行うため NHEK、HaCaT と口腔癌細胞株の ASC と IVL の mRNA 発現を定量的 PCR でタンパク質発現とを western blot 法で同様に検討した。</p> <p>【結果】1. <i>In vivo</i> IHC により正常口腔粘膜では ASC は分化が進行した顆粒層から有棘細胞層に多く発現していた。OSCC では cancer pearl 周囲に多く発現しており、低分化 OSCC では発現はほとんど認められなかった。単変量解析の結果では ASC は原発部位、T 分類、病期、病理学的分化度、浸潤様式とリンパ細胞浸潤と統計学的有意な相関が認められた。Kaplan-meier 法では ASC 発現レベルの違いは 5 年生存率で統計学的有意差が認められた。疾患特異的生存率を end-point とした多変量解析では ASC 発現は独立した予後因子であり ASC 高発現群は生存率が高いこと統計的に認められた。IHC と蛍光抗体法により ASC と IVL の共在が観察された。TUNEL 法の結果からは ASC の発現が多い OSCC はアポトーシスが多いことが認められた。</p> <p>2. <i>In vitro</i> NHEK と HaCaT を用いた分化誘導実験からは ASC と IVL は共に分化後では mRNA 量もタンパク量も増加することが認められた。NHEK、HaCaT と口腔癌細胞株を使用した定量的 PCR と western blot 法では NHEK、HaCaT で ASC と IVL が口腔癌細胞株に比較し発現が高かった。</p> <p>【考察】本研究において正常口腔粘膜では分化進行に伴い ASC の発現が増加することが認められた。OSCC において ASC は cancer pearl 周辺に発現していた。正常な大腸と皮膚では表層で ASC 発現が認められたことが報告されている。皮膚の癌化の過程で ASC は癌抑制遺伝子として作用することが報告されており、大腸癌、前立腺癌と悪性黒色腫では DNA メチル化により発現低下し結果としてアポトーシスに対し抵抗する可能性が示唆されている。本研究では ASC 発現減少は病理学的悪性度と関連し、予後不良とも関連していた。ASC 発現は細胞分化とアポトーシスと関連していることが示され、なんらかの役割を果たしている可能性が考えられた。ASC 発現は OSCC のアポトーシスを誘導する可能性が考えられ ASC は OSCC において予後や悪性度の指標として有用であることが示唆された。</p>	