HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	エナメル上皮腫のbuddingにおける侵襲性増殖メカニズムの解析［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	篠原, 早紀
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13874号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78643
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Saki_Shinohara_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（歯学）　　氏　名　篠　原　早　紀

学　位　論　文　題　名
エナメル上皮腫の budding における侵襲性増殖メカニズムの解析

キーワード（５つ）　エナメル上皮腫，budding ，ΔNp63，HuR，歯原性腫瘍

エナメル上皮腫は顎骨内に生じる歯原性腫瘍である．良性腫瘍でありながら，侵襲性増殖や，再発をきたすことが特徴的である．根治的な治療には顎骨切除を行う必要があり，患者の Quality Of Life (QOL)に大きく影響する．しかし，侵襲性増殖や再発のメカニズムの詳細はまだ不明であり，これを解明することはエナメル上皮腫の再発予防の観点から重要である．

エナメル上皮腫の亜型のひとつである単嚢胞型エナメル上皮腫は，嚢胞壁面の腫瘍の増殖様式により，内腔型と壁在型に分けられる．内腔型では摘出術のみでも腫瘍の残存が少ないが，嚢胞壁面から周囲の間質に腫瘍が増殖する壁在型では摘出術のみでは腫瘍が残存し，再発の可能性が高い．この周囲の間質に

腫瘍細胞が進展している構造を budding という．我々は，budding がエナメル上皮腫の侵襲性増殖や再発に関与するのではないかと考え，budding 形成の分子メカニズムを解析することを目的とした．

Budding では腫瘍細胞の増殖能や，運動能が亢進している可能性があると考えられる．侵襲的な増殖様式を示す歯原性腫瘍では細胞増殖能や運動能に関わるΔNp63 の発現が高いとの報告がある．また，ΔNp63 は mRNA の 3’非翻訳領域に AU-rich element（ARE）を持つ．ARE mRNA は通常，転写後すぐに分解されるが，RNA 結合タンパクのひとつである HuR は ARE に結合して ARE-mRNA を安定化する．しかし，エナメル上皮腫における HuR に関する報告はない．そこで，ΔNp63 と HuR に注目し，本研究を行った．

ヒトエナメル上皮腫でのΔNp63 と HuR の免疫組織染色の結果，budding 領域でΔNp63 と HuR の強い発現が認められ，両者の発現領域が一致していた．HuR は通常は核のみに存在するが，増殖・浸潤活性の高い細胞では核のみならず細胞質にも存在し，ARE-mRNA の安定化をもたらす．Budding 領域において，HuR は核と細胞質に発現が認められたことから，HuR とΔNp63 の関係を解析した．ヒトエナメル上皮腫由来株 AM-1 細胞を用いた RIP assay により，HuR とΔNp63 mRNA の結合が認められた．HuR と ARE との結合阻害剤である CMLD-2 を用いると，両者の結合が阻害され，HuR はΔNp63 mRNA の ARE と結合することが示唆さ

れた．さらに，HuR はΔNp63 mRNA の安定化とΔNp63 タンパクの発現に関与していることがわかった．

また，CMLD-2 により，AM-1 細胞の細胞増殖能や運動能，3 次元マトリックス内での浸潤能が抑制された．我々は，budding において細胞が周囲に進展しやすくなるのは細胞間接着の低下によって嚢胞様構造がくずれたことに起因すると考え，細胞間接着について検討した．ΔNp63 ノックアウト AM-1 細胞では，上皮の細胞間接着分子である E-cadherin の細胞膜における強い発現が認められた．また，ヒトエナメル上皮腫の免疫染色の結果，budding 領域において E-cadherin の発現は認められなかった．これらのことから，ΔNp63 は細胞間接着にも関与することが示唆された．

E-cadherin は上皮系マーカーであり，budding 領域の細胞で E-cadherin の発現の低下がみられたことから，同領域において上皮間葉転換（EMT）が起きている可能性も考えられた．しかし，間葉系マーカーである N-cadherin, Vimentin の発現は認められず，またβ-catenin の核内移行もみられなかった．これらのことからエナメル上皮腫の budding 領域の細胞は EMT を起こしているのではなく，細胞間接着の低下という上皮の特徴を一部失っている状態にあると考えられた．

本研究より,エナメル上皮腫の budding では HuR によるΔNp63 mRNA の安定化

を介したΔNp63 の発現亢進によって細胞間接着が低下していることが示唆された．今後もさらなる検討が必要だが,エナメル上皮腫の budding 形成のメカニズムを解明することができれば，エナメル上皮腫の侵襲性増殖や再発に対する新たな治療法の開発や予後予測因子の発見に寄与することが期待される.