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_review.pdf，審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（歯学）　　氏　名　篠　原　早　紀

審 査 担 当 者　主査　教授　樋田　京子
副査　教授　鄭　漢忠
副査　教授　北川　善政
副査　准教授　東野　史裕

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

審査は,審査担当者全員の出席の下,はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われた.その内容を以下に示す.

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，侵襲性に増殖することが特徴的であり，再発の一因となっている．エナメル上皮腫の亜型の一つに嚢胞型エナメル上皮腫があり，さらに内腔型と壁在型に分けられる.壁在型は嚢胞壁から腫瘍が周囲の間質に進展する構造が特徴的であり,この構造を budding という．壁在型は摘出術のみでは腫瘍の残存の可能性があり，内腔型に比べて再発率が高いことから，budding は侵襲性増殖や再発に関係しているのではないかと考えられる．しかし，budding 形成メカニズムについてはまだ解明されていない．そこで我々は細胞増殖や運動能に関与するΔNp63 と RNA 結合タンパクである HuR に着目した．HuR は mRNA の AU-rich element(ARE)に結合し，ARE-mRNA を安定化する機能がある．一方，ΔNp63 をコードする mRNA は，ARE-mRNA として知られている．

本研究ではエナメル上皮腫の budding 形成の分子メカニズムを明らかにすることを目的とし，ΔNp63 と HuR の budding 形成における役割について解析を行った．免疫組織染色によりヒトエナメル上皮腫の budding 領域において，ΔNp63 および HuR の発現領域が一致していた．さらにヒトエナメル上皮腫由来細胞株 AM-1 細胞を用いた *in vitro* 解析により，HuR タンパクは*ΔNp63* mRNA に結合し，その mRNA の安定化を介してΔNp63 の発現亢進に関与していることが見出された．CMLD-2 により HuR と ARE-mRNA との結合を阻害すると,AM-1 細胞の増殖能や,運動能,3 次元マトリックス内の

浸潤能が低下した.

ΔNp63 をノックアウトした AM-1 細胞では上皮系マーカーの一つ, 細胞間接着分子 E-cadherin の発現亢進が認められ, ヒトエナメル上皮腫 budding 領域では免疫組織染色により E-cadherin 発現が認められなかった. これらのことより, ΔNp63 の上皮間葉転換（EMT）への関与が疑われたが, 間葉系マーカーである N-cadherin, Vimentin の発現は budding 領域には認められず, β-catenin の核内移行を示す所見は認められなかった. これらの結果から, エナメル上皮腫の budding 領域では細胞間接着が低下しており上皮の性質が一部失われているものの, 完全な上皮間葉転換（EMT）が起きているわけではないことが示唆された.

本研究により, エナメル上皮腫の budding 形成には, HuR によるΔNp63 の mRNA の安定化とタンパクの発現亢進による細胞間接着の低下が関与していることが示唆された. さらなる研究により budding 形成の分子メカニズムを明らかにし, 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開発が望まれる.

審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた. 以下にその項目を記す.

（１） mural typeの解析をしているが, 他のtypeのものではbuddingがみられるか. また免疫組織染色の結果はどうか.
（２） エナメル上皮腫のbuddingはどのくらいの割合でみられるか. どのようなタイプで多いか.
（３） 大腸がんなどのbuddingと同様のものか.
（４） ΔNp63を本研究で着目した理由. 他の因子についても検討を行ったか.
（５） 他の因子（vimentin, MMP-9など）についてbuddingのない部位で調べた場合の結果は.
（６） 骨の吸収は圧迫吸収だけではなく他の因子の影響があるのではないか.
（７） 腫瘍周囲の間質と骨との間で何が起こっていると考えられるか.
（８） 本研究から考えられる治療法について.
（９） 破骨細胞が活性化するときにHuRが細胞質に発現するが, トリガーとなりうるような炎症の所見はあるか.
（１０）CMLD-2は毒性があるのか. 人体への応用は可能なのか.

本研究の結果は, エナメル上皮腫の研究において重要な細胞生物学的情報を提供しており, また, 学術的にも高く評価されると考えられた. 加えて, 上記の質疑応答から, 申請者は本研究内容を中心とした専門分野はもとより, 関連分野について十分な理解と知識を有していることが確認された.

以上のことから, 審査担当者全員は学位申請者が博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認めた.