

氏名	小畑 協一
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第5487号
学位授与の日付	平成29年3月24日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Tachykinin Receptor 3 Distribution in Human Oral Squamous Cell Carcinoma (ヒト口腔扁平上皮癌におけるタキキニン3(Tac3)受容体の分布)
論文審査委員	杉本 朋貞 教授 中野 敬介 准教授 佐々木 朗 教授

学位論文内容の要旨

[緒言]

タキキニン(Tachykinin :以下 TAC)は哺乳類の中枢および末梢神経系に分布する神経ペプチドファミリーである。このファミリーには共通のC末端構造を有するTAC1、TAC2、TAC3が属しており、それぞれがGタンパク共役受容体であるTAC1受容体、TAC2受容体、TAC3受容体(Tachykinin receptor 3 :以下TACR3)に作用する。

TACR3は、大脳皮質や海馬等の中枢神経系にのみ存在すると報告されてきた。特にTAC3/TACR3は視床下部下垂体系における性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)を調節する重要な因子で、この系に異常が起こると低ゴナドトロピン性性腺機能低下症や不妊症等を引き起こすとされており、生理学的発達および生殖系に必須である。性ホルモン受容体は頭頸部扁平上皮癌にも存在していることが報告されているが、生殖因子の役割は不明なままで、TAC3/TACR3と口腔扁平上皮癌との関係についての報告はまだない。そこでわれわれは口腔扁平上皮癌におけるTACR3の発現について研究を行った。

[材料と方法]

臨床検体は、2000～2013年に岡山大学病院口腔外科(病態系)で舌、歯肉、口底、頬粘膜の扁平上皮癌と診断され、放射線療法や化学療法を施行せずに外科的切除された各8症例、計32症例とした。またTissue microarrayはUS Biomax社の正常組織切片と、頭頸部疾患組織切片を用いた。

免疫組織化学的染色はDako社のEnVision FLEX Mini Kit High pHのプロトコルに従った。蛍光免疫染色は、anti-TAC3をAlexa Fluor 488で、anti-Protein Gene Product 9.5をAlexa Fluor 647で蛍光標識し、DAPI含有封入材を用いて封入した。

[結果]

Tissue microarrayの結果、正常組織切片ではTACR3が大脳皮質や下垂体だけでなく、食道や腎臓、肝臓、肺、胎盤、前立腺など身体の各所において発現していた。また頭頸部疾患組織切片では舌や歯肉、口底、頬粘膜等の扁平上皮癌組織で発現していた。

続いて下顎歯肉癌切片の免疫組織化学的染色を行ったところ、正常上皮ではTACR3の発現はなかった。

しかし正常上皮に好染する傾向があるサイトケラチン 13(Cytokeratin 13 :以下 CK-13)と、異型上皮に好染する傾向があるサイトケラチン 17(Cytokeratin 17 :以下 CK-17)を追加で染色し、上皮の分化度別で TACR3 の染色状態の評価を行ってみたところ、dysplasia、carcinoma in situ と進行するに従って TACR3 の発現が増加し、浸潤癌ではほとんどの腫瘍細胞で TACR3 が発現していた。さらに腫瘍の口腔側である上皮表層では TACR3 の発現が弱かったが、顎骨浸潤側では強い発現を認めた。一方で TAC3 は腫瘍細胞での発現は認めなかったが、PGP9.5 陽性の下歯槽神経に強い発現を認めた。

[考察]

TACR3/TAC3 が口腔扁平上皮癌と密接な関係を持っていることが本研究で示唆された。CK-13 は正常扁平上皮の重要な構成要素であるが、TACR3 の発現とともに CK-13 の発現が減少している。この結果から TACR3 が扁平上皮の異常分化に関与している可能性が考えられた。また CK-17 は異型扁平上皮における細胞の運動能や遊走能を増加させることが知られている。CK-17 の発現と TACR3 の発現が比例していることから、TACR3 が癌細胞の運動能や遊走能に関与している可能性も考えられた。以上のことから TACR3 が口腔扁平上皮癌の特異的マーカーのひとつとなりうることが示唆された。

TAC3 は主に中枢神経系で発現していると報告されていたが、本研究では顎骨浸潤のある下顎骨の末梢神経である下歯槽神経で発現を認めた。TAC3 は神経伝達物質としての役割だけではなく、癌の骨微小環境で非常に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

TACR3 の発現は、中枢および末梢レベルにおけるエストロゲンによって調節されるとの報告がある。また一方でエストロゲン関連受容体 α (Estrogen-related receptor alpha: 以下 ESRRA)は、前立腺癌や卵巣癌、そして口腔扁平上皮癌に発現しており、さらに口腔扁平上皮癌の遊走および浸潤に関与しているとの報告もある。これらの所見から TACR3 と ESRRA が密接に腫瘍形成において重要な役割を果たしている可能性が考えられ、特に腫瘍による骨吸収によって骨基質から成長因子として放出されるエストロゲンが、TACR3 を発現する腫瘍細胞の浸潤性を亢進させている可能性があり、今後さらなる研究が必要と考えている。

論文審査結果の要旨

タキキニン(Tachykinin :以下TAC)は哺乳類の中枢および末梢神経系に分布する神経ペプチドファミリーである。このファミリーには共通のC末端構造を持つTAC1やTAC2、TAC3が属しており、それぞれがGタンパク共役受容体であるTAC1受容体、TAC2受容体、TAC3受容体(Tachykinin receptor 3 :以下TACR3)に作用する。

TAC3 / TACR3は視床下部-下垂体-性腺系を制御する重要な因子で、生理学的発達および生殖系に必須である。しかしTAC3の過剰分泌は性ホルモンの産生を促進するため、性ホルモン受容体を有する口腔扁平上皮癌細胞に作用し増殖が促進されるとの報告がある。このようにTAC3 / TACR3が口腔扁平上皮癌に間接的に関与している報告はあるが、直接的に関与しているとの報告はまだない。本論文は口腔扁平上皮癌におけるTAC3 / TACR3の発現について検討を行ったものである。

本研究では、US Biomax社の正常組織アレイと、頭頸部疾患組織アレイ、また2000～2013年に岡山大学病院口腔外科(病態系)で舌、歯肉、口底、頬粘膜の扁平上皮癌と診断され、外科的切除された各8例、計32例の臨床検体の免疫組織学的染色で検討を行った。

研究結果は以下の内容であった。

- 1) 正常組織アレイでは大脳皮質や食道、腎臓、肝臓など身体の各所にTACR3が発現していたが、口腔組織では発現していなかった。しかし頭頸部疾患組織アレイでは舌や歯肉、口底等の扁平上皮癌で発現していた。
- 2) 舌、歯肉、口底、頬粘膜の扁平上皮癌臨床検体において、腫瘍蜂巣部にTACR3が発現していた。また正常口腔扁平上皮でTACR3は発現していなかったが、*dysplasia*、*carcinoma in situ*と進行するに従って発現細胞数が増加し、浸潤癌ではほとんどの腫瘍細胞でTACR3が発現していた。さらに顎骨浸潤した歯肉癌の臨床検体におけるTACR3の発現程度は、口腔側の腫瘍細胞よりも顎骨浸潤側の方が強かった。
- 3) TAC3は腫瘍細胞で発現していなかったが、PGP-9.5陽性下歯槽神経で発現していた。

本研究の結果は、TACR3の免疫活性が口腔扁平上皮癌に特異的に発現することを明らかにしたものであり、TACR3が癌化過程を示すマーカーとなる可能性を示唆している。病巣内での免疫活性の分布から、TACR3は扁平上皮の異常分化や癌細胞の運動能あるいは遊走能に関与することが推測される。また、TAC3の発現は癌の微小環境における神経組織の役割を示唆するものである。以上の研究成果は、口腔扁平上皮癌の進行の機序解明や、TAC3/ TACR3を起点とした治療法開発に寄与するものと評価できる。

よって、審査委員会は本論文に博士(歯学)の学位論文としての価値を認める。