氏　　名（ふりがな）	安井　大樹（やすい　ひろき）
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲　第796号
学位授与の日付	平成29年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項に該当
学位論文題目	HGF/c-Met induces cell migration of oral squamous cell carcinoma via lamellipodin （HGF/c-Metはlamellipodinを介して口腔扁平上皮癌細胞の細胞遊走を誘導する）
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University　第51巻　第1号 平成29年4月
論文調査委員	主 査　　中嶋　正博　教授 副 査　　森田　章介　教授 副 査　　今井　弘一　教授

論文内容要旨

診断と治療が進歩しているにもかかわらず，口腔扁平上皮癌（Oral squamous cell carcinoma; OSCC)は他の癌と同様に，局所再発やリンパ節転移がしばしば認められる．リンパ節転移や遠隔転移が生じたOSCCは予後が悪く，生存率が低いことが特徴である．

転移において重要な役割を持つ細胞遊走能を制御する仕組みとして，epidermal growth factor receptor (EGFR)を介した経路が報告されている．口腔扁平上皮癌の約90%はEGFRを過剰発現しているため，EGFRの高発現と，臨床病期の進行や予後不良との間に相関関係があると考えられている．これまでに，OSCC細胞株であるSASとHSC3の遊走能がEGFR阻害剤により低下するも，HSC4の遊走能には影響を及ぼさないことを報告した．

また，EGFRと同様にreceptor tyrosine kinases (RTKs)の一つであるc-Metは，リガンドであるHepatocyte Growth Factor(HGF)と結合することにより細胞遊走や浸潤を誘導することが，肺癌や乳癌などの一部の癌で報告されている．

そこで本研究では，HSC4の細胞遊走におけるfilopodiaおよびlamellipodiaの形成においてc-Metシグナル経路が関与しているか否かについて検討した．

OSCC細胞株HSC4を，37℃, 5% CO_2条件下で10% FBSを含んだDMEM培地で培養した．細胞増殖におけるEGFR阻害剤AG1478の影響をMTT assayにて検討した．また， HSC4の遊走能に関与するシグナル経路を明らかにするため，scratch wound healing assayを用いて，阻害剤による処理やリガンドの添加による遊走能に対する影響を検討した．さらに，細胞遊走時に観察される細胞突起であるfilopodiaやlamellipodiaの形成能とRTKsを介したシグナル経路について検討するため,各阻害剤やリガンドを添加したときに細胞突起を形成する細胞の割合について検討した．さらに，細胞突

起の形成に必要なlamellipodinタンパクがRTKsを介したシグナル経路によって調節されているのか否かについて，検討した.

HSC4はAG1478処理により，細胞増殖が抑制されたが，遊走能は低下しなかった．しかし，c-Met阻害剤SU11274にて処理したことによりHSC4の遊走能は低下し，c-MetのリガンドのHGFを添加することで遊走能は亢進した．他の細胞と同様に，HSC4は遊走時にfilopodiaやlamellipodiaを形成していた．HSC4におけるこれら細胞突起を形成する割合は，AG1478による処理や，EGFの添加による影響を受けなかったが，SU11274 による処理により細胞突起を形成する割合は有意に低下し，HGFの添加により上昇した.HSC4におけるlamellipodinタンパク量はSU11274により減少し,HGFの添加により増加した.

以上の結果から，本研究ではOSCC細胞株においてHGFがc-Metを刺激することでlamellipodinのタンパク量が増加し,lamellipodiaやfilopodiaを形成する能力が亢進するため,OSCC細胞株HSC4の細胞遊走能が亢進することが判明した.

論文審査結果要旨

本論文は、口腔扁平上皮癌（OSCC）における転移のメカニズムを明らかにするため、OSCC 細胞株を用いて細胞遊走能に関するシグナル伝達機構を調べたものである。

これまでに、OSCC細胞株のSASはcetuximabにてEGFRシグナル伝達を抑制することで遊走能が低下する一方で、HSC4 の細胞遊走には影響がないことを報告した。今回の研究において、HSC4はEGF/EGFRシグナル伝達を増殖時に利用しているが、細胞遊走には利用しておらず、EGF以外の血清に含まれる成分が細胞遊走に重要であることが明らかになった。血清には多くの増殖因子が含まれているので、何がHSC4の細胞遊走を制御しているのか検索した。その結果、HGFとその受容体であるc-Metを介したシグナル伝達がSASとHSC4の細胞遊走を制御していることが明らかになった。これらの結果は、EGF/EGFRシグナル伝達よりもHGF/c-Metシグナル伝達を抑制することが、OSCC細胞株の細胞遊走を制御するために重要であることを示している。

細胞は遊走するとき、filopodiaやlamellipodiaといった細胞突起を形成しながら遊走することが知られている。そこで、HSC4における細胞突起の形成とEGF/EGFRおよびHGF/c-Metシグナル伝達の関係を検討した。本研究より、EGF/EGFRシグナル伝達はHSC4の細胞突起の形成に影響しないが、HGF/c-Metシグナル伝達はHSC4の細胞突起の形成に重要であることが明らかになった。これら細胞遊走には多くの分子が関与しており、lamellipodiaの形成に必須であるlamellipodinもそのうちの一つである。今回の結果より、HGF/c-Metシグナル伝達の亢進によりHSC4におけるlamellipodinのタンパク量が増加し、阻害剤にてHGF/c-Metシグナル伝達を抑制することでlamellipodinのタンパク量が減少することが明らかになった。Lamellipodinのタンパク量の制御に関するシグナル伝達はこれまでに報告されておらず、HGF/c-Met シグナル伝達が lamellipodin のタンパク量を増加し、lamellipodiaの形成が促進されることで細胞遊走が高まることを示している。これらの結果や考察は、過去の論文にみられない新規性を有している。

以上、このことからOSCC細胞株の遊走制御においてHGF/c-Metシグナル伝達をターゲットにすることは有効であることが示唆された点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。