

ふりがな氏名	たに みつる 谷 暢
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 958 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 3 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	Effect of cell death induced by deferriferrichrysin on oral squamous cell carcinoma cells (口腔扁平上皮癌細胞における deferriferrichrysin の細胞死誘導効果)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第 57 巻 第 1 号 令和 5 年 4 月
論文調査委員	主査 井関 富雄 教授 副査 沖永 敏則 教授 副査 竹信 俊彦 教授

論文内容要旨

口腔扁平上皮がん（OSCC）は、頭頸部がんの中で最も一般的なタイプであり、新しい分子標的治療が模索されている。鉄は、エネルギー生成、酸素運搬、DNA 合成など、多くの細胞プロセスに関与する重要な微量元素であり、非がん細胞と比較して、がん細胞は、急速な DNA 合成と成長を維持するために必要な鉄に対する需要が高いことが知られている。近年、シデロフォアなどの鉄キレート化合物が、がん細胞の増殖を抑制することが報告されている。deferriferrichrysin (Dfcy) は、*Aspergillus oryzae* およびその近縁種が生産する環状ヘキサペプチドのシデロフォアであり、*Aspergillus oryzae* が生産するシデロフォアの種類である。bisucaberin は、深海泥から分離された *Aleromonas haloplanktis* 株 SB-1123 が生産する化合物で、*in vivo* で腫瘍関連マクロファージによる殺腫瘍効果を高める。Dfcy と bisucaberin は *in vitro* でアポトーシスを促進することにより腫瘍を抑制することが既に報告されている desferrioxamine と ferrichrome と同じヒドロキサメートグループに属している。本研究では、HSC-3 および SAS ヒト OSCC 細胞株における Dfcy および bisucaberin の細胞毒性作用を検討した。

フェロジン発色法を用いて Dfcy, Fcy, bisucaberin の鉄キレート能力を測定した実験では、Dfcy は用量依存的に Fe³⁺ をキレートした。10 µg/mL bisucaberin は約 75% の鉄をキレートし、10 µg/mL Dfcy は約 50% の鉄をキレートした。Dfcy または bisucaberin で処理した HSC-3 および SAS 細胞の WST-8 生存率測定法から、Dfcy および bisucaberin は、HSC-3 および SAS 細胞の増殖を用量依存的に有意に阻害した。アポトーシスのカスパーゼ-3 活性アッセイから bisucaberin 処理した SAS 細胞では、カスパーゼ-3 の活性がコントロールと比較して 2.5 倍と有意に上昇した。HSC-3 および SAS 細胞におけ

る PARP、cleaved PARP、caspase-3、cleaved caspase-3、cyclin D1 発現に対する Dfcy および bisucaberin の影響評価ではウェスタンブロット解析を行い、処理群間のアポトーシスマーカーのレベルを比較した。DNA 修復酵素である cleaved PARP の発現は、bisucaberin 処理後に HSC-3 および SAS 細胞の両方で増加した。Dfcy 処理は SAS 細胞のみ増加した。SAS 細胞では bisucaberin 処理のみ cleaved caspase-3 レベルが増加したが、Dfcy 処理では HSC-3 細胞、SAS 細胞のいずれでも cleaved caspase-3 レベルは変化しなかった。cyclin D1 タンパク質量は、HSC-3 および SAS の両細胞において、Dfcy および bisucaberin 処理後に用量依存的に減少した。

結論として、本研究により、bisucaberin はアポトーシスを誘導することにより OSCC の成長・増殖を抑制することが明らかとなった。Dfcy は OSCC の細胞増殖を抑制するものの、細胞死やカスパーゼ-3 活性を有意に上昇させることはなかった。細胞周期の停止など、これらのシデロフォアの抗腫瘍メカニズムについて、さらに調査する必要がある。

論文審査結果要旨

シデロフォアは多くの微生物が自身の生存のために備えている低分子化合物であり、鉄飢餓状態の時に分泌され、周囲環境に存在する三価鉄と錯体形成し生体内に鉄を取り込む役割を持っている。この研究はデフェロキサミンに代わる新たなシデロフォアを 2 つ (deferri-ferrichrysin (Dfcy) および bisucaberin) 取り上げ鉄キレーターが口腔扁平上皮癌細胞に対し増殖抑制効果が期待できるか検討したものである。キレート能試験および WST-8 アッセイから、鉄を含まない Dfcy および bisucaberin に口腔癌細胞の増殖抑制効果を認めたが、鉄と完全に錯体形成した Fcy には認められなかった。Western Blotting により、Dfcy と bisucaberin が口腔扁平上皮癌細胞 HSC-3 細胞および SAS 細胞の Cyclin D1 発現を減少させることが示された。SAS 細胞において bisucaberin のみが cleaved caspase-3 の発現を増加させた。これらの結果は、bisucaberin が癌細胞のアポトーシスを誘導することにより、口腔癌細胞の増殖を抑制することを示唆している。Western Blotting 解析により、Dfcy 処理した SAS 細胞、bisucaberin 処理した HSC-3 および SAS 細胞で cleaved PARP 発現量が著しく増加していた。しかし、Caspase-3 assay にて著明な結果が得られなかったことから Dfcy がアポトーシスを介して口腔癌細胞の進行を抑制するか明示できなかった。本論文の結論として bisucaberin はアポトーシスを誘導することにより、HSC-3 および SAS 細胞の成長と増殖を抑制することを明らかにした。

以上、2 つのシデロフォア Dfcy および bisucaberin が口腔扁平上皮癌細胞に対し新たな抗腫瘍薬の成分として有用である可能性が示された点において、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。