

氏 名	齋藤 翔太
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 甲第698号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成26年 3月10日
学位論文題目	Mechanisms underlying cancer progression caused by ezrin overexpression in tongue squamous cell carcinoma  (Ezrin 高発現による舌扁平上皮癌の腫瘍進展メカニズム)
審査委員	主査 教授 醍醐 弥太郎  副査 教授 扇田 久和  副査 教授 小笠原 一誠

## 論文内容要旨

*整理番号	704	(ふりがな) 氏名	さいとう しゅうた 齋藤 翔太
学位論文題目	<p>Mechanisms underlying cancer progression caused by ezrin overexpression in tongue squamous cell carcinoma</p> <p>(ezrin 高発現による舌扁平上皮癌の腫瘍進展メカニズム)</p>		
<p>〈背景及び目的〉</p> <p>頭頸部の扁平上皮癌は世界で 7 番目に多い悪性腫瘍であり、本邦において舌扁平上皮癌は頭頸部癌の中で最も多い癌のひとつである。進行癌では外科的切除だけでなく、化学療法や放射線治療を併用した集学的治療が行われているものの、治療後の QOL や 5 年生存率が低いのが現状である。腫瘍進展の分子メカニズムを明らかにし、進行癌に対するより効果的な新しい治療法を開発することが求められている。</p> <p>ezrin は、radixin、moesin とともに、ERM タンパクファミリーのひとつであり、リン酸化により、アクチンと細胞膜糖タンパクとをつなぎ、細胞の形態や、極性、表面構造、細胞接着、運動性などさまざまな機能に関与している。悪性腫瘍の進展における ezrin の役割については、近年非常に注目されている。ezrin は、骨肉腫、乳癌、鼻咽頭癌や前立腺癌などの転移に重要な役割を担っていることが報告され、また、乳癌、子宮体癌や卵巣癌、悪性黒色腫、軟部肉腫などのさまざまな悪性腫瘍において、ezrin の高発現は予後不良因子であるといわれている。しかし、口腔癌における ezrin の役割は未だ明らかにはなっていない。そこで舌扁平上皮癌における ezrin の役割を明らかにすることを目的として本研究を行った。</p> <p>〈方法〉</p> <p>舌扁平上皮癌 69 例、舌正常組織 10 例の tissue microarray を用いて、ezrin と Ki-67 の免疫組織学的染色と Tunnel 染色を行い、舌扁平上皮癌における ezrin の発現を調べ、ezrin の発現と細胞増殖及びアポトーシスとの関係を調べた。さらに、ezrin の発現が確認できた舌扁平上皮癌細胞株 HSC-3 を用いて、siRNA により ezrin の抑制を行い、MTT assay、細胞周期の評価、wound healing assay、invasion assay、細胞骨格の蛍光免疫染色や western blotting を行うことで、舌扁平上皮癌における ezrin の発現と、増殖、遊走、浸潤との関連や、細胞形態の変化、Rho family、N-cadherin、E-cadherin、<math>\beta</math>-catenin といった分子生物学的変化に関して評価を行った。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

### 〈結果〉

Tissue microarray を用いた免疫染色の結果、46.4%の舌扁平上皮癌組織では、舌正常組織と比較して有意に ezrin の高発現を認めた。舌正常組織では、ezrin は主に細胞膜に局在しているのに対して、舌扁平上皮癌組織では細胞膜だけでなく細胞質において強い発現が認められた。TNM 分類とは有意な相関関係は認めなかったが、ezrin を高発現している舌扁平上皮癌症例ではリンパ節転移がやや多い傾向にあった。Apoptotic index とは関連は認められなかったが、ezrin の高発現と Ki-67 index との間には正の相関を認めた。

HSC-3 を用いた *in vitro* での実験では、RNAi による ezrin の抑制により、増殖速度の低下が見られ、細胞周期の検討では、腫瘍細胞は G0-G1 期に停滞し、S 期への移行が抑制されていた。アポトーシスは ezrin の発現抑制の有無に関わらず認められなかった。また、ezrin を抑制することで、遊走能、浸潤能が低下、細胞突起の減少が認められた。ezrin の抑制による RhoA、Rac1、cdc42 といった Rho family の発現に変化は認められなかったが、E-cadherin、 $\beta$ -catenin の発現増加、N-cadherin の発現低下が認められた。

### 〈考察〉

ezrin は舌扁平上皮癌組織において有意に高発現しており、*in vivo* での Ki-67 との相関や、*in vitro* での細胞周期の評価により、腫瘍細胞の増殖に関与していることが示された。また、本研究の *in vitro* の研究結果により、ezrin は舌扁平上皮癌の遊走能と浸潤能の亢進、細胞突起の形成に関与していることが明らかとなり、腫瘍の進展に重要な E-cadherin/ $\beta$ -catenin complex を介した細胞接着の抑制や、腫瘍の E-cadherin から N-cadherin への cadherin switch にも関与している可能性が示唆された。腫瘍の進展過程において、癌細胞は接着分子の発現を変化させ、上皮系の形態から間葉系の形態に変化することにより原発巣から離脱し、高い運動能や浸潤能を獲得するといわれており、このような上皮間葉転換に ezrin が関与している可能性も示唆された。

### 〈結論〉

ezrin はさまざまな機序を介して、舌扁平上皮癌の腫瘍進展において重要な役割を果たしていることが明らかとなり、ezrin が治療のターゲットと成り得ることが示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	704	氏名	齋藤 翔太
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のごと。)</p> <p>本論文では、舌扁平上皮癌における ERM タンパクファミリーである ezrin の発現および機能的意義を明らかにすることを目的として研究を行った。そのため、舌扁平上皮癌 69 例、正常舌組織 10 例の tissue microarray を用いて、ezrin の免疫組織化学染色を行った。さらに ezrin 発現舌癌細胞株を用いて、siRNA により ezrin の発現阻害実験を行い、細胞増殖、遊走、浸潤能や細胞形態変化、細胞接着・運動関連分子の発現を評価した。結果、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 46.4%の舌扁平上皮癌組織では、正常舌組織と比較して有意に ezrin の細胞膜および細胞質での高レベルの発現を認めたが、TNM 分類とは有意な相関は認めない。</li> <li>2) ezrin の発現と Ki-67 index には正の相関を認める。</li> <li>3) ezrin の発現阻害により、G0/G1 期の細胞集団の増加を伴う細胞増殖抑制および遊走能、浸潤能の低下、細胞突起の減少が認められる。</li> <li>4) ezrin の抑制により E-cadherin、<math>\beta</math>-catenin のタンパク量増加、N-cadherin の減少が認められる。</li> </ol> <p>本論文は、ezrin を介した舌扁平上皮癌の増殖、遊走能、浸潤能の機構の一端を明らかとし、今後の診断・治療戦略の可能性について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 590 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 26 年 1 月 27 日)</p>			