

論文内容要旨

論文題目

口腔扁平上皮癌の顎骨浸潤部における癌関連線維芽細胞の Semaphorin 3A の発現

責任講座： 病理診断学 講座
氏 名： 笹原 庸由

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】口腔扁平上皮癌（OSCC）において顎骨浸潤は予後不良因子である。顎骨浸潤に対する治療は顎骨切除であり、術後の咀嚼障害や審美障害が問題となる。顎骨浸潤に効果的な治療薬の開発により、切除範囲の縮小、予後や QOL の改善が期待されるため、OSCC の顎骨浸潤メカニズムの解明が急務である。我々は OSCC の顎骨浸潤先進部では、OSCC 細胞あるいは癌関連線維芽細胞（CAF）が破骨細胞（OC）の誘導に関与すると仮説を立てた。本研究の目的は、OSCC の顎骨浸潤に関与する遺伝子を検索し、OSCC あるいは CAF の OC 誘導への関与を明らかにすることである。【方法】外科的手術が行われた OSCC 症例のうち、病理組織診断で顎骨浸潤を認めた症例を研究対象とした。H.E.染色と免疫染色（Cathepsin K、RANKL、AE1/AE3、RANK、 α -SMA、FAP）を行い、組織学的な解析は HALO ソフトウェアにより実施した。OSCC の 3 つの領域 [顎骨直上で CAF が豊富な tumor bone interface (TBI)、顎骨から離れ CAF が豊富な tumor-stromal area (TSA)、顎骨から離れ CAF が少ない領域 tumor alone area (TAA)] を選び、これらの領域における CAF と OC の数を測定した。さらに、ホルマリン固定パラフィン包埋標本上の TBI、TSA から抽出した RNA を用いてマイクロアレイを実施した。同定された候補遺伝子の発現と局在を免疫染色、蛍光二重染色で検討した。統計解析には Kruskal-Wallis test を用い、 $P < 0.05$ を有意水準とした。【結果】OSCC の顎骨浸潤部では Cathepsin K⁺ OC が骨を吸収していた。一般的に OC の誘導に関与すると知られている RANKL-RANK の発現を検索した結果、RANKL は AE1/AE3⁺ OSCC に強発現し、RANK は Cathepsin K⁺ OC に発現していた。しかし、OSCC は OC から少なくとも 120 μ m 以上離れていたため、RANKL-RANK シグナル伝達の可能性は低いと考えられた。そこで OSCC と顎骨の 120 μ m 以内に存在する α -SMA および FAP⁺ CAF に着目した。TBI、TSA、TAA における Cathepsin K⁺ OC の数を比較した結果、OC は CAF が多い TBI でのみ認め、CAF の多い TSA や CAF が少ない TAA では認めなかった。マイクロアレイにより TSA に対して TBI で発現が上昇する上位 10 個の遺伝子を検索し、このうち OC に関する報告がある SEMA3A に着目した。免疫染色により、TBI において SEMA3A は FAP⁺ CAF に局在していることを確認した。【結論】OSCC の顎骨浸潤部に存在する CAF に SEMA3A が発現することが明らかになった。今後、この CAF が発現する SEMA3A の機能について明らかにする予定である。

令和 6 年 12 月 18 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学 位 論 文 審 査 結 果 報 告 書

申請者氏名： 笹原庸由

論 文 題 目： 口腔扁平上皮癌の顎骨浸潤部における癌関連線維芽細胞の Semaphorin 3A の発現

審 査 委 員：

主審査委員

高木 理彰



副審査委員

中 島 修



副審査委員

上 野 美 之



審査終了日：令和 6 年 12 月 17 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

口腔扁平上皮癌（OSCC）における予後不良因子の顎骨浸潤の病態解明を目的に、脱灰処理した病理検体を用いて癌細胞、破骨細胞（OC）、癌関連線維芽細胞（CAF）に着目して行われた研究である。

申請者は、骨組織を含む OSCC 組織を 1) 骨組織に隣接して CAF が多く存在する領域（TBI）、2) 骨から離れ CAF が多い領域（TSA）、3) 骨から離れ CAF が少ない領域（TAA）の 3 つに分類し、細胞形態に加え、AE1/AE3（OSCC）、Cathepsin K（破骨細胞）、 α -SMA 及び FAP（CAF）を指標として免疫組織学的に細胞を同定し、OC に強く発現する受容体 RANK とそのリガンドで OC の分化誘導や機能を促進する RANKL の発現状況も解析した。

OSCC の顎骨浸潤部位では、癌細胞と骨組織の間に α -SMA⁺FAP⁺CAF が存在し、同時に RANK を発現した Cathepsin K⁺ OC が骨を吸収する知見が得られた。一方 AE1/AE3⁺ OSCC は RANKL を強発現するものの 120 μ m 以上 OC から離れて存在するため、OC の分化誘導と機能を亢進させるには RANK-RANKL 以外の分子機構が存在する可能性を申請者は考えた。因って OC の多い TBI と少ない TSA を用い、マイクロアレイ法にて TBI で発現が亢進する遺伝子を探索した結果、Semaphorin 3A（SEMA3A）の有意な発現亢進を認めた。あわせて SEMA3A の CAF での局在、CAF が多く存在する TBI にのみ Cathepsin K⁺ OC が存在することも明らかにした。これらの結果から OSCC の顎骨浸潤部における OC の分化誘導には CAF が産生する SEMA3A が関与する可能性がある」と結論した。

本研究は OSCC 顎骨浸潤部で癌細胞と骨組織の間に CAF が存在し、CAF 由来の RANK に刺激された OC が骨破壊に至る病的骨吸収の中心を担うこと、その CAF には SEMA3A も発現していることを明らかにした点に新規性がある。一方、CAF 由来の SEMA3A の機能解析がなされていないこと、過去の報告で骨吸収に関する SEMA3A の役割が未だ一定の見解をみていないことから、CAF 由来の SEMA3A が骨吸収を促進するのか、骨浸潤を防ぐのか、その関与の意義についてのさらなる検討を期待しつつ、審査委員会では、本研究論文は博士（医学）の授与に値すると判定した。