

| | | | | |
|---------|---|--------|--------|--|
| 氏名（本籍） | 内田 文彦（茨城県） | | | |
| 学位の種類 | 博士（医学） | | | |
| 学位記番号 | 博甲第 7034 号 | | | |
| 学位授与年月 | 平成26年 3月25日 | | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | | |
| 審査研究科 | 人間総合科学研究科 | | | |
| 学位論文題目 | Overexpression of cell cycle regulator CDCA3 promotes oral cancer progression by enhancing cell proliferation with prevention of G1 phase arrest (細胞周期関連遺伝子 CDCA3 の口腔がん進展機序におけるメカニズムの解析) | | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 博士（医学） | 原 尚人 | |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士（医学） | 関堂 充 | |
| 副査 | 筑波大学講師 | 博士（医学） | 中馬越 清隆 | |
| 副査 | 筑波大学助教 | 博士（理学） | 水野 智亮 | |

論文の内容の要旨

（目的）

新規に口腔がん関連遺伝子として同定した Cell division cycle associated 3（CDCA3）について分子生物学的解析を行い、口腔がんにおいて分子標的となり得る可能性を探ること、口腔がん特有の発がんメカニズムを明らかにすること、口腔がんのマーカーになり得る可能性を探ることを目的とした。

（対象と方法）

口腔癌由来細胞株6株とヒト正常口腔粘膜上皮細胞である human normal oral keratinocytes（HNOKs）での CDCA3 の発現状態（mRNA およびタンパク質）を比較解析した。さらに CDCA3 遺伝子を強制発現減弱させ、増殖能の変化を比較し、フローサイトメトリーによる細胞周期解析を行い、細胞周期関連遺伝子の発現状態について評価した。同遺伝子発現の臨床応用の可能性を検証するため、手術にて切除された口腔癌症例の検体の正常組織部と同一患者の癌組織部、ならびに前癌病変症例を対象とし、免疫組織染色を行い、染色強度についてスコア化し、臨床指標と CDCA3 タンパク質の発現状態について比較検討した。

(結果)

HNOKs と、6 種類の口腔癌由来細胞株における CDCA3 の mRNA の発現状態を解析したところ、HNOKs に比べ、すべての細胞株で CDCA3 の発現亢進が統計的有意差($p < 0.05$)をもって確認された。ウェスタンブロットティングにてタンパク質の発現状態を比較したところ、リアルタイム PCR での解析結果と同様にすべての口腔癌由来細胞株で高発現を示した。CDCA3 をノックダウンさせると、細胞増殖能が低下し、CDK 阻害因子である p15^{Ink4B}、p16^{Ink4A}、p21^{Cip1}、p27^{Kip1} の発現亢進を伴い、細胞周期 G1 期停止を起こした。臨床検体における CDCA3 タンパク質の発現解析を免疫組織染色にて評価したところ、CDCA3 は非癌部および前癌病変症例に比較し癌組織部で有意な発現亢進を認め($p < 0.05$)、同一患者の癌組織と正常組織でのタンパク質発現スコアを比較すると 95 例中 79 例 (83%) で癌組織での発現量が高い結果であり、CDCA3 の発現は腫瘍径と相関していた($p < 0.05$)。

(考察)

口腔癌由来細胞株及び臨床検体の口腔癌組織において CDCA3 の発現亢進を認めたこと、malignant transform の可能性がある前癌病変では CDCA3 の発現が低く、正常組織と発現量に差は認めなかったこと、腫瘍径が増大するにつれて CDCA3 タンパク質発現量も多くなるという臨床指標との相関を認めたこと、以上の結果より口腔扁平上皮の癌化に CDCA3 の過剰発現が関与することが示唆された。また、CDCA3 の発現亢進により CDK 阻害因子の過剰な分解が促進され、細胞周期の制御不能が起こり、口腔がん細胞の増殖能が亢進し腫瘍の発育速度が速くなる可能性が推測された。口腔がんにおける CDCA3 を標的とした分子標的治療や、口腔がんならびに前がん病変の生検検体における CDCA3 タンパク質の発現量を評価することによる放射線感受性・抗がん剤感受性試験ならびに前がん病変の悪性転化の評価試験への臨床応用が期待できると考える。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は口腔がんの診断治療の指標となりうる CDCA3 に着目している。分子生物学的基礎研究、免疫組織学的に前がん状態を含めた臨床的検討は、前向き研究を見据えて将来の分子標的治療指針の作成に大きく貢献すると考えられ、非常に高く評価できる。また、放射線・抗がん剤感受性や前がん病変の悪性転化の確立など、すぐに臨床応用できることも評価できる。

平成 26 年 1 月 14 日、学位論文審査委員会において審査委員全員出席のもと論文についての説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行なった。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。