

論文審査の要旨

報告番号	総研第 708 号		学位申請者	小野 裕右
審査委員	主査	中田 匡宣	学位	博士(歯学)
	副査	南 弘之	副査	西谷 佳浩
	副査	原 博満	副査	犬童 寛子

Interleukin-1 α promotes matrix metalloproteinase-9 expression, cellular motility, and local invasiveness of ameloblastoma cells

(IL-1 α はエナメル上皮腫細胞において MMP-9 の発現を促進し、腫瘍細胞の運動性、局所浸潤性を高める)

エナメル上皮腫は良性の歯原性腫瘍でありながら、高頻度の再発や局所浸潤による顎骨破壊などを含む特異な臨床像を呈する。腫瘍の局所浸潤には、細胞運動能の亢進や組織を破壊する MMP (matrix metalloprotease) 類の産生が重要である。しかし、エナメル上皮腫における MMP 産生の誘引因子に関する知見は十分でなかった。本論文では、悪性腫瘍でのサイトカイン産生が悪性度と相関するという報告や著者らが以前に樹立したエナメル上皮腫細胞株 AM-3 細胞が IL-1 α 産生性であったという知見を踏まえ、エナメル上皮腫由来の IL-1 α が腫瘍細胞の MMP-9 発現、遊走能、および浸潤能に及ぼす影響、ならびに腫瘍細胞と間質細胞の共培養時に間質細胞の運動能や腫瘍細胞自体の振る舞いに変化があるかについての解析が行われた。

培養細胞における遺伝子発現量はリアルタイム PCR 法により評価され、細胞から分泌された MMP-9 は ELISA 法で定量された。培養細胞の運動能と浸潤能は、それぞれ boyden-chamber とコラーゲン充填済み chamber を用いた系で評価された。また、HFF-2-DsRed (DsRed を発現する HFF-2 線維芽細胞、以下 HFF-2 細胞と表記) と AM-3-GFP (GFP を発現する AM-3 細胞、以下 AM-3 細胞と表記) の 3 次元共培養において、HFF-2 細胞集団へ向かう AM-3 細胞の集団的細胞浸潤は DL-CGH (double layered collagen gel hemisphere, 重層コラーゲングル半球) 変法により評価された。

その結果、本研究で以下の知見が得られた。

- 1) IL-1 α 刺激により、AM-3 細胞における MMP-9 遺伝子発現量や培養上清中への MMP-9 分泌量が増加した。
- 2) IL-1 α 刺激により、AM-3 細胞の細胞運動能は亢進し、IL-1Ra (IL-1 受容体アンタゴニスト) の添加により、細胞運動能が抑制された。
- 3) IL-1 α 刺激により、マクロファージ系細胞 Raw 細胞の運動能は亢進した。IL-1 α 刺激だけではなく、AM-3 細胞から調製した培養上清の刺激によっても、類似の作用が認められ、IL-1Ra の併用により、細胞運動は抑制された。
- 4) IL-1 α 刺激により、AM-3 細胞の細胞浸潤能は亢進し、IL-1Ra 併用により、細胞浸潤は抑制された。
- 5) 3 次元共培養では、AM-3 細胞が HFF-2 細胞集団に向かうという集団的細胞浸潤が認められ、IL-1Ra や抗 IL-1 α 中和抗体の添加により、集団的細胞浸潤は抑制された。

以上の結果から、エナメル上皮腫の腫瘍微小環境において、腫瘍細胞が分泌する IL-1 α が腫瘍細胞自身に作用すること、IL-1 α が間質線維芽細胞に作用し、間質線維芽細胞からも遊走促進分子が放出されること、IL-1 α が腫瘍細胞の周囲組織への移動や浸潤を促進すること、マクロファージ系細胞も腫瘍細胞から分泌される IL-1 α に依存して腫瘍に誘引されることが示唆された。本研究において、著者らの着想による共培養モデル (DL-CGH 変法) は、エナメル上皮腫の臨床像や病理学的特徴をよく反映するモデルであると考えられる。

本研究で、著者らは IL-1 α がエナメル上皮腫の局所浸潤を制御する重要な因子である可能性を初めて明確に示した。さらに、IL-1 受容体アンタゴニストを用いて局所病変の進展を抑制するという治療上の可能性も示しており、大変興味深い。

したがって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。