

論文審査の要旨

報告番号	総研第 256 号	学位申請者	下川 充芳
審査委員	主査	古川 龍彦	学位
	副査	谷本 昭英	副査
	副査	夏越 祥次	副査
			橋口 照人

The transcription factor Snail expressed in cutaneous squamous cell carcinoma induces epithelial-mesenchymal transition and down-regulates COX-2

(転写因子 Snail は皮膚扁平上皮癌に上皮間葉転換を誘導し COX-2 を抑制する)

EMT (Epithelial-Mesenchymal Transition、上皮-間葉移行)とは上皮細胞が間葉系様細胞に形態的及び機能的に変化する現象であり、EMT を獲得した細胞では、上皮系から間葉系への発現マーカーの変化やアクチンストレスファイバーの再構築が誘導され、運動能や浸潤能が著しく亢進する。EMT を誘導する代表的な転写因子として Snail が知られている。紡錘形細胞型皮膚扁平上皮癌は稀だが非常に悪性度の高い皮膚癌で、通常の皮膚扁平上皮癌と異なり、角化傾向を示さず紡錘形の細胞がびまん性に拡大する特徴を有し、通常の皮膚扁平上皮癌がEMTを起こし生じる事が示唆される。紡錘形細胞型皮膚扁平上皮癌と皮膚扁平上皮癌において免疫組織化学染色を行い上皮系、間葉系マーカーの評価を行ったところ、紡錘形細胞型皮膚扁平上皮癌では COX-2 の発現が減少していた。COX-2は大腸癌、胃癌、食道癌、前立腺癌、乳癌、肺癌など様々な癌で発現が上昇していることが報告されており、COX-2 の発現低下は予期せぬ結果であった。本研究では COX-2 発現低下と Snail との関連を明らかにするため、ケラチノサイト系細胞 (HaCaT, A431, HSC5 細胞) へ Snail 遺伝子を導入し EMT を誘導させ、COX-2 の転写制御機構に関し分子生物学的解析を行った。その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

1. 紡錘形細胞型皮膚扁平上皮癌において上皮系マーカーである E-cadherin の細胞膜での発現減少と間葉系マーカーである Vimentin の細胞質での発現、Snail の核内での発現が認められ、COX-2 の発現は減少していた。
2. ケラチノサイト系細胞 (HaCaT, A431, HSC5 細胞) への Snail 遺伝子導入により、安定して Snail を発現するクローンは紡錘形の形態に変化し、ウェスタンブロットにより上皮系マーカーの E-cadherin の減少と間葉系マーカーである Vimentin の増加と共に、COX-2 の減少が認められた。A431-Snail 細胞において COX-2 の mRNA が抑制される事が RT-PCR で認められた。
3. COX-2 のプロモーター領域の解析では E-box 4ヶ所を含む (-1432/+59) reporter plasmid の導入時にプロモーター活性の低下が認められ、E-box 2ヶ所を含む (-327/+59) と、E-box 1ヶ所を含む (-134/+59) の reporter plasmid を用いた、デュアルルシフェラーゼアッセイで、(-327/+59) の reporter plasmid 導入時にプロモーター活性が著しく低下しており、(-188 to -183) の E-box に Snail が結合している事が示唆された。

本研究により皮膚扁平上皮癌においても Snail によって EMT が誘導されることが示された。更に、Snail が COX-2 の転写活性を抑制するという新たな興味深い知見も得られた。よって本研究論文は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。