

## 第 3 学年 (中期審査) 研究発表会抄録

日時:平成 31 年 3 月 1 日

会場:岩手医科大学歯学部第四講義室 (C 棟 6 階)

### 1. 唾液腺腫瘍組織発生機構の解明

Elucidation of histogenesis of salivary gland tumors

○森 弓里子, 衣斐 美歩, 佐藤 泰生,  
入江 太朗

岩手医科大学病理学講座病態解析学分野

#### 【背景・目的】

唾液腺腫瘍において初期組織発生の流れは今日まで明らかにはなっていない。これは摘出された手術材料を解析しても、その標本内において病変がすでに完成してしまっており、極めて初期段階の腫瘍組織の発生を解析できないためである。その結果、唾液腺腫瘍分類そのものが複雑化せざるを得ず、病理医間の診断再現性の低下を招いている。今日まで、唾液腺腫瘍組織発生に直接的に関わる遺伝子については多形腺腫 遺 伝 子 1 (pleomorphic adenoma gene 1:PLAG1) が明らかにされているのみである。この PLAG1 を過剰発現するトランスジェニックマウスでは唾液腺腫瘍が誘導されることが報告されている (*Cancer Res.* 65:4554-53, 2005)。しかし、PLAG1 の過剰発現がヒト正常唾液腺組織においてどのような影響を及ぼすのかについては不明である。そこで本研究では、ヒト正常唾液腺細胞における PLAG1 遺伝子の機能的役割を明らかにすることを目的とする。

#### 【方法】

本実験は、ヒト正常唾液腺組織から細胞種ごとに単離しその後 SV40 origin-defective mutant DNA の導入により不死化された培養細胞株 {導管上皮細胞 (NS-SV-DC), 腺房細胞 (NS-SV-AC), 筋上皮細胞 (NS-SV-MC)} (*Lab. Invest.* 69 (1):24-42, 1993) を使用した。3 種類のヒト正常唾液腺細胞株の各々についてトランスフェクション試薬を用いてプラスミド

DNA の遺伝子導入を行い、一定期間培養し細胞内にて PLAG1 を過剰発現させた。PLAG1 の発現量はそれぞれの細胞からタンパク抽出を行い Western Blotting 法にて確認した。その条件下にて、(1) それぞれの細胞株での PLAG1 過剰発現による細胞の機能変化、および (2) 唾液腺組織を構成している細胞種間での表現型の違いについて比較・検討を行った。

#### 【まとめおよび今後の展開】

今後は PLAG1 過剰発現の最適条件下の細胞を用いることにより、PLAG1 がヒト正常唾液腺細胞の増殖、遊走・浸潤能、分化能や造腫瘍性にかなる役割を有するのかが明らかになるものとする。これらの結果を基盤としてヒト唾液腺腫瘍の初期組織発生の仕組みの一端が明らかになることが期待される。

### 2. 間葉系幹細胞による炎症調節メカニズムの解明

Analysis of molecular mechanisms underlying inflammation regulated by mesenchymal stem cells

○相原 恵子, 帖佐 直幸\*, 石崎 明\*,  
八重 柏 隆

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座歯周療法学分野, 岩手医科大学学生化学講座細胞情報科学分野\*

【背景・目的】 歯周炎はプラークなどの外来抗原に対する炎症反応によって引き起こされる。炎症反応はサイトカインやケモカイン、ケミカルメディエーターといった液性因子のみならず、細胞間相互作用を介しても調節される。本研究では、免疫担当細胞であるマクロファージ (Mφ) と炎症抑制作用を有する間葉系幹細胞 (MSC) の相互作用による炎症調節メカニズム

を解明する。初期審査では細胞間接着による platelet-derived growth factor 受容体の発現抑制を報告したが、今回は MSC が分泌する液性因子にも着目して解析を実施した。

【方法】マウス M $\phi$  様細胞 Raw264.7 を GFP マウス 骨 髄 由 来 MSC SG2 (Sawada et al., 2016) ならびに線維芽細胞様細胞 SG6 と接着共培養後、単球/M $\phi$  分離カラムで Raw264.7 のみを単離し RNA を抽出した。得られた RNA をサイトカイン-サイトカイン受容体アレイに供することで、SG2 との共培養時のみで特異的に発現する遺伝子を網羅的に解析した。同定された遺伝子についてはリアルタイム RT-PCR で発現量を確認した。

【結果】SG2 と接着共培養された Raw264.7 は、SG6 との共培養と比較してケモカイン受容体 C-C chemokine receptor type 7 (CCR7) の mRNA 発現が有意に増加した。一方、Raw264.7 をパラホルムアルデヒドやメタノールで固定した SG2 と共培養しても、CCR7 の mRNA 発現は変化しなかった。この結果は、SG2 によって分泌された因子がパラクリンに作用することで CCR7 の発現を誘導することを示唆している。そこで、我々によって免疫抑制効果が期待できると同定された MSC 由来サイトカイン様ペプチド scrapie responsive gene 1 (SCRG1) で Raw264.7 を処理すると CCR7 の発現が増加した。すなわち、SG2 によって分泌された SCRG1 がパラクリンに Raw264.7 に作用することで CCR7 の発現が増加すると考えられた。

【考察及びまとめ】SCRG1 は、我々によって同定された受容体 bone marrow stromal cell antigen -1/integrin 複合体を介してオートクリンに MSC の stemness を維持する (Aomatsu et al., 2014)。加えて、M $\phi$  にパラクリンに作用することで LPS 誘導性ケモカイン C-C motif chemokine ligand (CCL) 22 の発現を抑制する (Inoue et al., 2017)。CCL22 は受容体 CCR4 を発現する単球や Th 細胞を炎症の場に誘引する。一方、本研究では SCRG1 が M $\phi$  の CCR7 の発現を促進することが示された。CCR7 は 7 回膜貫通レセプターを有した G タンパク共役受容体で、ケモカイン CCL19 や CCL21 と結合することで T 細胞や樹状細胞の炎症巣からの退出やリンパ組織へのリクルートに必須な因子として知られている。M $\phi$  における CCR7 の発現

の意義は明らかになっていないが、炎症の収束に伴って M $\phi$  が消失するメカニズムに関与する可能性は高い。以上の結果から、炎症部位に集積した MSC から分泌された SCRG1 は、オートクリンに MSC の stemness 維持に寄与するとともに、パラクリンに M $\phi$  に作用して炎症を調節する可能性が示唆された。今後は、M $\phi$  における CCR7 の発現誘導メカニズムやリガンド感受性を詳細に解析することで、SCRG1 による炎症調節のメカニズムを明らかにする。

### 3. ヒト口腔扁平上皮癌細胞 HSC-4 の上皮間葉転換における Sox9 および Hippo 経路の関与について

Effects of Hippo pathway and Sox9 on epithelial-to-mesenchymal transition of human oral squamous cell carcinoma cells HSC-4

○平野 大輔, 加茂 政晴\*, 石崎 明\*,  
宮本 郁也, 山田 浩之

岩手医科大学歯学部口腔顎顔面再建学講座  
口腔外科学分野, 岩手医科大学生化学  
講座細胞情報科学分野\*

#### 【背景・目的】

癌細胞の悪性化において、上皮間葉転換 (EMT) によって誘導される細胞間接着因子としての cadherin の質的・量的変化である cadherin switch が重要であることが知られている。我々はこれまでに、EMT 関連転写因子の Slug は、TGF- $\beta$  1 刺激で発現が上昇し、E-cadherin の発現を抑制するが、N-cadherin の発現には関与しないことを見出している。しかしながら、口腔領域において最も発生頻度の高いヒト口腔扁平上皮癌 (hOSCC) 細胞において、EMT 誘導性転写因子による cadherin switch の調節機構の詳細は明らかにされていない。一方、癌細胞培養時の密度変化に伴う遺伝子の発現変化は、Hippo 経路により制御されることが知られている。しかし、hOSCC 細胞表面に存在する細胞接着因子による Hippo 経路を介した EMT の制御機構は明らかでない。そこで我々は、hOSCC 細胞の cadherin switch における細胞内シグナル伝達機構について、