

化能力を持つ MSC 株 SG2, SG3 ならびに SG5 を得た。興味深いことに, SG2 は TGF- $\beta$ 1 に応答性が強く, SG3 は BMP-2 に対する応答性が強いが, SG5 はこれらのいずれの刺激に対しても応答性が低かった。今後, これらの MSC 株を用いて *in vivo* 移植実験を行い, GFP の緑色蛍光でトレースすることで体内動態を確認しつつ, TGF- $\beta$  や BMP が各細胞の増殖や分化にどのように影響するかについて調査を進める予定である。また現在, 各 MSC 株特異的にその増殖・分化能力を調節するシグナル伝達系の存在についてより詳細に明らかにすべく, 各 MSC 株の成長因子 / 受容体の発現頻度差についてプライマーアレイ等で網羅的に解析中である。

## 2. ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-4 細胞における浸潤能発現機構の解明

○樋野 雅文, 客本 齊子\*, 帖佐 直幸\*, 水城 春美, 石崎 明\*, 加茂 政晴\*

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, 生化学講座細胞情報科学分野\*

背景・目的: 近年, 癌の浸潤および転移には, 上皮間葉転換 (EMT) が関与することが数多く報告されている。一方, 口腔領域において扁平上皮癌は最も発生頻度の高い癌である。我々はこれまでにヒト口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-4 細胞において transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) 刺激が転写関連因子 Slug を介し EMT を誘導し高い遊走能を獲得することを報告した (J Biochem, 153:303, 2013)。そこで本研究は HSC-4 細胞の EMT における浸潤能に関わる因子について解析を行い, その浸潤のメカニズムについて検討する。

方法: 浸潤に関する遺伝子とタンパク質の発現は quantitative real time RT-PCR (qRT-PCR) およびウェスタンブロットによりそれぞれ解析した。また, 浸潤能の解析 (invasion assay) には細胞を invasion chamber (Matrigel コーティング) 上で 24 時間培養した後, culture insert 下面に浸潤した細胞をマイヤーヘマトキシリン溶液で染色することで観察した。プロテオーム

解析には, SDS-PAGE によりタンパク質を分離した後, LC-MS/MS により同定した。

結果: TGF- $\beta$ 1 は, HSC-4 細胞の浸潤能を亢進した。この浸潤能に関与する因子を検索するために, 培養上清をプロテオーム解析したところ, TGF- $\beta$ 1 刺激により MMP-10 の発現が上昇することが判明した。加えて, この TGF- $\beta$ 1 刺激による MMP-10 の発現量の増大は, qRT-PCR を用いても確認された。次に, siRNA を用いて MMP-10 の発現をノックダウンし同様に invasion assay を行ったところ, TGF- $\beta$ 1 刺激細胞の浸潤能は抑制された。さらに, EMT に重要な働きをする Slug と MMP-10 の発現との関連性について検討した。siRNA を用いて Slug をノックダウンし MMP-10 の発現量を調べたところ, TGF- $\beta$ 1 の刺激にも関わらず MMP-10 の有意な減少を示した。一方, MMP-10 の発現に重要な働きをする Wnt タンパク質の発現について調べたところ, TGF- $\beta$ 1 刺激により Wnt5b の発現が増大した。興味深いことに, Wnt 経路をそのシグナル伝達分子 Dvl の阻害剤などで不活性化すると, TGF- $\beta$ 1 刺激により誘導された MMP-10 の発現は抑制された。さらに, Wnt5b の発現は Slug に依存することが siRNA を用いて示された。

考察及びまとめ: TGF- $\beta$ 1 処理により MMP-10 の発現は増大し, HSC-4 細胞の浸潤能を上昇させることを見出した。また, この TGF- $\beta$ 1 による MMP-10 の発現誘導は, Slug を介した Wnt5b の発現誘導の後に, この Wnt5b がオートクラインあるいはパラクライン的にこの細胞に作用して起こるものであることが示唆された。

## 3. 口腔軟組織における Bisphosphonate 製剤の作用に着目した BRONJ 発症機序の探究

○小松 祐子, 衣斐 美歩\*, 星 秀樹, 帖佐 直幸\*\*, 客本 齊子\*\*, 加茂 政晴\*\*, 杉山 芳樹, 石崎 明\*\*

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, 医歯薬総合研究所腫瘍生物学部門\*, 生化学講座細胞情報科学分野\*\*