学 位 論 文 要 旨

研究題目

Establishment of a patient-derived mucoepidermoid carcinoma cell line
with the *CRTC1-MAML2* fusion gene
(*CRTC1-MAML2* 融合遺伝子を保持した唾液腺由来粘表皮癌の培養細胞の樹立)

兵庫医科大学大学院医学研究科
医科学専攻
器官・代謝制御系
口腔科学 (指導教授 岸本 裕充)
氏 名 神田 修治

粘表皮癌 (Mucoepidermoid carcinoma : MEC) は全唾液腺腫瘍の約 5%、唾液腺悪性腫瘍の約 26% を占めるが、治療法は外科的切除が中心で、放射線治療や癌化学療法に対する感受性は不明な点が多い。我々は低悪性度の MEC と診断し、外科的切除を施行した腫瘍組織から HCM-MEC 細胞株 (MEC010) を培養細胞として樹立し、MEC の 40-80% で発現している *CRTC1-MAML2* 融合遺伝子と腫瘍の増殖に関与する Amphiregulin (AREG) を確認した。患者由来の腫瘍組織は 1 mm から 2 mm 片にして培養し、線維芽細胞を除去するために EpCAM を標識し、MACS システムで腫瘍細胞のみを単離、得られた細胞を Y-27632 添加 F 培地で培養した。0.05% EDTA / トリプシンを 38°C で 5 分間作用させ、腫瘍細胞を継代した。少なくとも 30 回の継代を行い、患者由来であることを STR 解析で確認した。さらに RT-PCR で *CRTC1-MAML2* 融合遺伝子を確認し、ウェスタンブロッティング (以下、WB) と免疫染色を用いて AREG と EGFR、p-EGFR の高発現を確認した。さらに、E-cadherin は高発現し Vimentin は軽度発現していた。AREG は既知の cAMP / CREB 調節遺伝子であり、AREG-EGFR シグナル伝達は *CRTC1-MAML2* 融合遺伝子の標的の 1 つとして同定されているので AREG-EGFR シグナル活性は、細胞増殖を促進する可能性がある。この結果は EGFR 経路が治療の標的となる可能性を示しており、本培養細胞では MEC010 の AREG-EGFR シグナル伝達を解析した結果、WB では AREG と p-EGFR が発現し、免疫染色では細胞膜に EGFR が発現していることから EGFR リガンドである AREG がオートクリン方式で EGFR を活性化している可能性を示唆している。したがって、頭頸部癌に適応がある抗 EGFR 抗体は *CRTC1-MAML2* 融合遺伝子陽性患者の治療に使用できる可能性がある。今後は MEC における AREG-EGFR シグナルの下流のシグナルの変化、EGFR の変異の有無について検討する余地があると考えられる。