

## 学 位 論 文 要 旨

研究題目

Establishment of an Oral Squamous Cell Carcinoma Cell Line Expressing Vascular Endothelial Growth Factor A and its Two Receptors

(VEGF-A とその 2 つの受容体を発現する口腔扁平上皮癌細胞株の樹立)

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 前田 (荒木) 華子

口腔癌の 90%以上は口腔扁平上皮癌 (OSCC) であり, OSCC の生存率はリンパ節転移や遠隔転移の有無に依存し, 転移メカニズムの病態解明が課題となっている. 癌の発生と進行における血管新生は, 癌細胞が産生する血管内皮細胞増殖因子 (VEGF-A) が担っており, VEGF-A が結合する受容体として, 血管内皮細胞に存在する VEGFR-1 および VEGFR-2 があげられる. 近年, 肺癌などで, VEGFR-1 および VEGFR-2 は癌細胞にも存在し, VEGF-A と結合することで, 自身の細胞周期や浸潤転移に寄与することが明らかになった. そこで, われわれは VEGF-A, VEGFR-1 および VEGFR-2 を同時に発現する上顎歯肉癌から扁平上皮癌培養細胞株 (HCM-SqCC010) を樹立し, オートクラインまたはパラクラインを利用した細胞増殖の自己制御機構および VEGF-A の存在様式について検討した.

当科で継代している 6 つの OSCC 培養細胞株のうち, 樹立した HCM-SqCC010 のみ RT-PCR で *VEGFA*, *VEGFR1* および *VEGFR2* を同時に発現していた. HCM-SqCC010 を VEGF-A 存在下で培養すると, *VEGFR1* および *VEGFR2* の発現は増加し, また, 抗 VEGFR-1 抗体あるいは抗 VEGFR-2 抗体存在下で培養すると, *VEGFA* の発現はそれぞれで低下した. HCM-SqCC010 に抗 VEGF-A 抗体存在下で培養したが, 細胞増殖に変化はなかった. 抗 VEGFR-1 抗体および抗 VEGFR-2 抗体存在下で培養すると, 細胞増殖は抑制された. さらに, 選択的 VEGFR-1 キナーゼ阻害薬および選択的 VEGFR-2 キナーゼ阻害薬を用いて HCM-SqCC010 を培養したところ, 用量依存的に増殖が抑制された. 選択的 VEGFR-1 キナーゼ阻害薬と比較し, 選択的 VEGFR-2 キナーゼ阻害薬は増殖をより強く抑制したため, HCM-SqCC010 における VEGF-A は VEGFR-2 キナーゼ活性に依存すると考えられた. 加えて, HCM-SqCC010 の培養上清よりエクソソームを確認した. エクソソームから抽出した RNA に *VEGFA* の発現が確認された.

以上より, HCM-SqCC010 において VEGF-A はパラクラインとして細胞外に放出されるのではなく, 細胞膜に存在する VEGFR-1 および VEGFR-2 をオートクラインまたは細胞内結合で増殖を活性化する可能性が考えられた. またエクソソーム内に *VEGFA* を含むことから, pre-metastatic niche を誘導している可能性が示唆された. 扁平上皮癌培養細胞株 HCM-SqCC010 は, 頸部リンパ節転移の pre-metastatic niche を解析する上で有用であると考えられた.