

論 文 要 約

**CD36 expression on oral squamous cell carcinoma cells
correlates with enhanced proliferation and migratory activity**

口腔扁平上皮癌における CD36 の遊走・増殖への役割

2018 年度

富山大学大学院医学薬学教育部生命臨床医学専攻
総合口腔科学

氏 名 櫻井 航太郎

備考 ① 論文要旨は，2,000 字程度とする。

② A4 判とする。

【目的】

CD36は分子量80kDaの膜2回貫通型糖タンパクであり、肝細胞、脂肪細胞、筋細胞、マクロファージおよび一部の上皮細胞などの様々な細胞に発現し、それらの細胞における脂肪代謝に重要な役割を果たしている。近年、癌におけるCD36を介した脂肪酸代謝の役割が注目され、増殖や転移、予後との関連などが示唆されている。しかし、癌の生物学的特性におけるCD36の役割についてはいまだに不明な点も多く、悪性度診断への応用や治療標的化にはさらなる解析が必要である。本研究では、口腔扁平上皮癌の遊走・増殖におけるCD36の関与を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

ヒト口腔扁平上皮癌細胞株HSC-2、HSC-3、HSC-4、Ca9-22を用い、細胞表面におけるCD36の発現をフローサイトメトリーにて解析した。CD36陽性細胞、陰性細胞それぞれについて増殖能を評価するため、細胞増殖マーカーであるKi-67の細胞内発現をフローサイトメトリーにて解析した。また、遊走能を評価するため、HSC-2を用いて、セルソーターによりCD36陽性細胞と陰性細胞に分離しmigration assayを行った。さらに、細胞接着に関わる分子であるE-cadherin、その裏打ちタンパクである β -catenin、遊走能に影響する分子である血小板由来増殖因子受容体 (Platelet Derived Growth Factor Receptors : PDGFRs) の発現ならびにCD44の発現をフローサイトメトリーにて解析した。さらに、脂肪酸がCD36の発現に与える影響を評価するため、パルミチン酸ナトリウムを添加し、CD36の発現をフローサイトメトリーにて解析した。

【結果】

フローサイトメトリーにより解析した全ての口腔扁平上皮癌細胞株でCD36の発現を認めた。また、Ki-67の細胞内染色により、いずれの細胞株においてもCD36陽性細胞で陰性細胞に比べてKi-67の発現は有意に高い値を示した。さらに、HSC-2を用い、CD36陽性細胞および陰性細胞をセルソーターにより分離回収し、migration assayにより遊走能を比較した。その結果、CD36陽性細胞は陰性細胞に比べて有意に遊走能が亢進していた。また、4種類の細胞株を用い、E-cadherin、 β -catenin、PDGFRsの発現を解析した結果、E-cadherinおよび β -cateninの発現は、CD36陽性細胞において陰性細胞と比べて低下していた。また、PDGFR α およびPDGFR β の発現はCD36陽性細胞において陰性細胞と比べて増強していた。さらに、CD36の発現とCD44の発現との関連について解析を行った結果、いずれの細胞株においてもCD36陽性細胞ではCD44強陽性に比べてCD44弱陽性の割合が高かった。そこで、CD36陽性細胞において、CD44強陽性細胞とCD44弱陽性細胞におけるE-cadherin、 β -cateninおよびPDGFRsの発現の差異について解析したところ、CD44弱陽性細胞において顕著にE-cadherinと

β -cateninの発現が低下していた。また、4種類の細胞株に、パルミチン酸0.1mMを加えて48時間培養し、CD36陽性細胞の割合を解析したところ、いずれの細胞株においてもCD36陽性細胞の割合が増加していた。

【総括】

口腔扁平上皮癌細胞株を用いた解析により、CD36陽性細胞は陰性細胞に比べて、増殖や遊走能が亢進しており、CD36の発現が口腔扁平上皮癌の悪性度と関連している可能性が示唆された。脂肪酸代謝に関与する分子として知られていたCD36であるが、最近の研究で、様々な悪性腫瘍における増殖や転移、上皮間葉転換（Epithelial Mesenchymal Transition: EMT）にも関与していることが示唆されている。本研究では、口腔扁平上皮癌細胞においてCD36陽性細胞で細胞接着に関わる分子であるE-cadherinや β -cateninの発現の低下とともに遊走能が亢進していたことからCD36陽性細胞におけるEMTとの関連について、現在さらに検討を行っている。また、CD36陽性細胞におけるCD44の発現について解析したところ、CD36陽性細胞においてはCD44の発現が強陽性と弱陽性の2つの細胞集団に分けられた。この内特にCD44弱陽性細胞ではE-cadherinと β -cateninの発現低下が認められ、細胞接着能のさらなる低下が示唆された。

本研究では、口腔扁平上皮癌においてCD36陽性細胞は、陰性細胞と比べて、Ki-67の発現が増強し、また、接着分子であるE-cadherinやその裏打ちタンパクである β -cateninの発現低下とともにPDGFRsの発現が増強しており、細胞の遊走能が亢進していた。以上の観察から、これらの細胞集団の中により増殖能や転移能が高い細胞が含まれている可能性が示唆された。以上の結果、CD36は口腔扁平上皮癌の悪性度診断において有用なマーカーの1つと考えられた。また、CD36に対する中和抗体投与や、siRNAによるCD36をノックダウンした担癌マウスモデルによる抗腫瘍効果の報告もあることから、これらCD36に対する特異的抗体や脂肪酸代謝を標的とした阻害薬の実臨床での応用が期待される。CD36の発現とEMTとの関連や、抗癌剤や放射線治療に対する抵抗性との関連など、いまだに不明な点もあることから、今後このCD36の診断への応用や治療上の標的化を目指してさらに解析を進めていく必要がある。