

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

Ectopic coexpression of keratin 8 and 18 promotes invasion of transformed keratinocytes and is induced in patients with cutaneous squamous cell carcinoma

(ケラチン 8/18 の異所発現によるケラチノサイトの浸潤性獲得と皮膚扁平上皮癌における発現誘導)

氏名 山城 義人 

## 論 文 要 旨

< 目的 > 皮膚扁平上皮癌 (cutaneous squamous cell carcinoma, cSCC) は表皮角化細胞 (ケラチノサイト) の悪性形質転換に由来する。悪性化細胞が表皮内に限局する例として actinic keratosis (AK) や Bowen's disease (BD) があるが、放置すると基底膜を越えて浸潤癌となり、転移を含む深刻な予後に結びつく例も少なくない。しかし、cSCC の浸潤・転移の機構は未だ完全には知られておらず、本研究ではプロテオミクス解析を用いて解明を試みた。




< 方法 > プロテオミクス解析には、転移能の低い悪性化マウスケラチノサイト株 (低転移株) と低転移株由来の高転移株を用いた。発現に差のある蛋白質を two-dimensional fluorescence difference gel electrophoresis (2-D DIGE) で探索し、MALDI-TOF/TOF 型質量分析装置による peptide mass fingerprinting (PMF) 及び

MS/MS 解析で同定し、Western 法、RT-PCR 法、Indirect immunofluorescence 法で確認した。細胞の in vitro 運動能、浸潤能は Boyden chamber 法と Matrigel の組み合わせで評価した。遺伝子導入と発現には retrovirus を用いた。また、2004 年の本学附属病院 cSCC 症例 (45 consecutive cases) についてケラチン免疫組織染色を行い、Fisher 検定に供した。

< 結果 > 高転移株のみが単層上皮ケラチン Krt8/18 の顕著な異所性発現と in vitro 浸潤能を示した。低転移株に Krt8/18 を共発現させると浸潤性を獲得したことから、Krt8/18 の浸潤・転移への関与が考えられた。また、浸潤癌症例でのみ Krt8/18 が有意に異所性発現することが判明し、cSCC の基底膜浸潤との関係が示唆された。Krt8/18 の異所性発現が prognosis marker とされる癌もあるが、cSCC ではさらなる検討を要する。

(別紙様式第 7 号)

## 論 文 審 査 結 果 の 要 旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	山城 義人
論文審査委員	審査日	平成 22 年 12 月 14 日	
	主査教授	山本 秀幸 	
	副査教授	吾見 直己 	
	副査教授	斎藤 誠一 	
(論文題目)			
Ectopic coexpression of keratin 8 and 18 promotes invasion of transformed keratinocytes and is induced in patients with cutaneous squamous cell carcinoma (論文審査結果の要旨)			
上記の論文に関して慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
皮膚扁平上皮癌は表皮角化細胞(ケラチノサイト)の形質転換に由来する。形質転換ケラチノサイトが表皮内に限局する光線角化症や Bowen 病も、放置すると基底膜を超えて浸潤癌となり、転移を含む深刻な予後に結びつく例が少なくない。皮膚扁平上皮癌の浸潤・転移のメカニズムは未だ完全には知られておらず、著者らはプロテオミクス解析による解明を試みた。			
2. 研究内容			
プロテオミクス解析には、扁平上皮癌を形成するが転移能の低い形質転換マウスケラチノサイト株(低転移株)と、低転移株由来の高転移株を用いた。両株の間で発現に差のある蛋白質を蛍光二次元電気泳動法で探索、MOLDI-TOF 型質量分析装置を用いてペプチドマスフィンガープリント法により同定したところ、高転移株のみで、単層上皮ケラチンフィラメントを構成するケラチン 8/18 (Krt8/18) ペアの異所性共発現が見出され、Western 法、RT-PCR 法、間接蛍光抗体法でも確認された。一方、細胞の基底膜浸潤能を Boyden chamber 法と Matrigel の組み合わせで評価したところ、高転移株のみが基底膜浸潤能を示した。そこで Krt8/18 の異所性共発現と基底膜浸潤能の因果関係を調べるため、低転移株に Krt8/18 をレトロウイルスで共発現させると、基底膜浸潤能を獲得した。また、2004 年の本学附属病院皮膚扁平上皮癌全 45 症例について免疫組織染色法で検討したところ、Krt8/18 の異所性共発現と基底膜浸潤との間に有意な相関が認められた。			
3. 研究成果の意義と学術的水準			
本研究は、マウスモデル細胞と臨床症例の解析により、皮膚扁平上皮癌における基底膜浸潤能と単層上皮ケラチンの異所性発現の関係を見出したものであり、皮膚扁平上皮癌の浸潤・転移のメカニズムを解明する端緒となる極めて高い水準にある研究と考えられる。			
以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。			

- 備考 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。  
 2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。  
 3 \*印は記入しないこと。