

論 文 要 旨

Regulation of IL-6 and IL-8 production by reciprocal cell-to-cell interactions between tumor cells and stromal fibroblasts through IL-1 α in ameloblastoma.

エナメル上皮腫における IL-1 α を介した 腫瘍細胞と間質線維芽細胞の相互作用による IL-6 および IL-8 産生制御

淵上 貴央

【序論及び目的】

エナメル上皮腫は歯原性上皮成分の増殖を伴う良性腫瘍であり、顎骨への高い浸潤能により、外科的治療後の顎顔面領域の変形や機能障害を引き起こす。本腫瘍は線維芽細胞や血球細胞を含む豊富な間質成分を有しており、腫瘍の実質と間質が微小環境を構築し、腫瘍の発育に関与することが伺われる。これまでに、エナメル上皮腫細胞における遺伝子発現やシグナル伝達に着目した研究は広く行われ、演者らは、エナメル上皮腫細胞が直接的に破骨細胞分化を誘導することや、Wnt シグナルを介して骨吸収に関わる MMP (マトリクスメタロプロテアーゼ) を分泌することを明らかにしている。しかし、エナメル上皮腫の間質細胞が本腫瘍の病態に与える影響については現在も明らかにされていない。

本研究では、申請者等が樹立した不死化エナメル上皮腫細胞株と、線維芽細胞 (実際に病変部より採取した線維芽細胞を含む) を用いて、エナメル上皮腫の腫瘍上皮細胞と間質細胞との相互作用が本腫瘍の病態メカニズムに及ぼす影響を明らかにする。

【材料及び方法】

本研究は、エナメル上皮腫細胞株 AM-3、ヒト線維芽細胞株 HFF-2、エナメル上皮腫病変部より採取した線維芽細胞等を用いた細胞実験を行った。細胞の培養上清を用いた細胞刺激を行い、細胞間の相互作用による遺伝子・蛋白発現の変化、破骨細胞分化や細胞遊走能・増殖能の変化について評価を行った。

1. エナメル上皮腫細胞と線維芽細胞の遺伝子発現の比較

エナメル上皮腫細胞株 AM-3 と線維芽細胞株 HFF-2 の遺伝子発現を DNA マイクロアレイにて比較した。

2. エナメル上皮腫病変嚢胞腔の内容液中の炎症性サイトカイン濃度測定

エナメル上皮腫患者の病変部嚢胞腔より採取した内容液中の炎症性サイトカイン濃度を ELISA 法により測定した。

3. エナメル上皮腫細胞刺激による線維芽細胞の遺伝子発現・蛋白分泌変化を評価

エナメル上皮腫細胞の分泌する液性因子が線維芽細胞の遺伝子発現に与える影響を調べた。5日間培養した AM-3 細胞の培養上清で線維芽細胞株 HFF-2 およびエナメル上皮腫病変部より採取した線維芽細胞を 24 時間刺激し、遺伝子発現の変化を定量 RT-PCR にて比較した。

4. エナメル上皮腫細胞刺激を受けた線維芽細胞由来の液性因子がエナメル上皮腫細胞に与える影響について評価

AM-3 培養上清の刺激により線維芽細胞が分泌した液性因子が腫瘍細胞の遊走能と増殖能に与える影響について、Migration assay (細胞遊走能試験) と Proliferation assay (細胞増殖試験) により評価を行った。

【結果】

1. AM-3 細胞は HFF-2 細胞に比べ、Interleukin (IL) -1 α 、IL-1 β 、IL-8、TNF- α といったサイトカインの遺伝子を高発現しており、中でも IL-1 α の発現が著明であった。
2. 病変部嚢胞腔の内容液は IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α を高濃度に含んでいた。また、AM-3 培養上清も同様に測定した結果、IL-1 α が高濃度に含まれていた。
3. 線維芽細胞における IL-6、IL-8 の遺伝子発現が著明に亢進した。また、AM-3 細胞の培養上清刺激の際に、抗 IL-1 α 抗体または IL-1Ra (レセプターアンタゴニスト) を加えたところ、この反応は中和することが可能であった。タンパク分泌について評価したところ遺伝子発現の変化と同様の傾向であった。
4. AM-3 細胞の培養上清で刺激された線維芽細胞の培養上清は、AM-3 細胞の細胞遊走能を有意に亢進した。また、その反応は抗 IL-6 抗体、抗 IL-8 抗体により中和することが可能であった。また、IL-6、IL-8 で刺激した AM-3 細胞の細胞遊走能および細胞増殖能は有意に亢進した。

【結論及び考察】

本研究により、エナメル上皮腫細胞は IL-1 α 分泌を介して間質線維芽細胞と相互的に働き、腫瘍の浸潤発育に有利な微小環境を形成する可能性が示された。また、その反応は抗 IL-1 α 抗体および IL-1Ra による中和が可能であった。さらに患者の病変嚢胞腔より採取した内容液は高濃度の IL-1 α 、IL-6、IL-8 を含んでおり、実際の病変においても同様の相互作用が起きている可能性が示された。

IL-1、IL-6、IL-8 は関節リウマチ患者の関節腔貯留液内にも高濃度で存在し、破骨細胞分化を促進することが知られており、本腫瘍の骨浸潤に関わる可能性がある。IL-1Ra は IL-1 に対する拮抗薬として関節リウマチに使用され、骨破壊に対して成果を上げている。IL-1Ra 製剤を併用した治療が本腫瘍の骨浸潤能を抑制できれば、最小限の外科手術で再発のない根治的治療が可能となるかもしれない。今後は、エナメル上皮腫における IL-1 α を介した腫瘍と間質の相互作用が、腫瘍の発育形態にどう関与するのかを、3次元培養や動物実験により解析していく予定である。