

## 論文内容の要旨

論文提出者	(氏名) 田中 文恵
論文題目	<p><b>Nuclear PKM2 promotes the progression of oral squamous cell carcinoma by inducing EMT and post-translationally repressing TGIF2</b></p> <p>核内 PKM2 は EMT 誘導および TGIF2 の転写後抑制を介して 口腔扁平上皮癌の進展に関与する</p>
<p>癌の進展には、EMT が重要な役割を担っていると近年報告され、EMT 抑制が口腔扁平上皮癌 (OSCC) の治療標的になりうると考えられている。癌細胞は酸素が豊富な環境下においても嫌氣的解糖系が主体となる Warburg 効果によりエネルギーを産生し、このとき 4 量体 PKM2 が解糖を促進する酵素として働いている。大腸癌において 2 量体 PKM2 が核内移行し TGF-<math>\beta</math> シグナルの下流に存在する TGIF2 と相互作用することで EMT が誘導され、癌の進展に関与しているとの報告があるが、その制御機構には不明な部分がある。そこで、我々は OSCC における PKM2 および TGIF2 を介した EMT 制御機構の解析を行うことを目的とした。</p> <p>福岡歯科大学医科歯科総合病院口腔外科で手術を行った、舌上皮異形成および舌癌症例を対象とし、組織免疫染色を行った。PKM2 発現は上皮異形成症例において殆ど認めず、舌癌高分化症例において細胞質に発現が認められ、分化度が低くなるほど、発現が増加する傾向であった。また、低分化症例の紡錘形細胞において PKM2 の核内発現を認めた。一方、TGIF2 は上皮異形成症例の基底細胞の核に発現が認められ、癌組織においては、分化度が低くなるにつれて、発現が低下する傾向が認められ、PKM2 と対照的な結果が得られた。</p> <p>舌原発単由来のヒト口腔扁平上皮癌細胞株である HSC-4 および SAS を用いて 5.0ng/mL TGF-<math>\beta</math>1、10ng/mL EGF を添加した培地で 72 時間培養し、EMT 誘導を行った。Western blotting の結果、EMT 誘導群において E-cadherin 発現は有意に減少し、N-cadherin、Vimentin 発現は有意に増加していた。PKM2 発現は増加傾向を認め、TGIF2 発現は有意に減少した。</p> <p>蛍光免疫染色を行うと、EMT 誘導群では細胞は紡錘形に変化し、E-cadherin 発現低下、Vimentin 発現を認め、EMT が起きていることが確認できた。また、PKM2 は比較群では細胞質に発現、EMT 誘導群では核に発現、一方、TGIF2 は比較群では核に発現、EMT 誘導群において発現は認められなかった。PKM2 の細胞分画を調べると細胞質での PKM2 発現は比較群、EMT 誘導群どちらも認められたが、核内発現は EMT 誘導時にのみ認められ PKM2 の核内移行により EMT 誘導が起きていると考えられた。</p> <p>PKM2 をノックダウンさせた細胞に EMT 刺激を与えたとき、E-cadherin の発現は維持され、Vimentin の発現を認めず EMT 誘導が抑制されていた。また、TGIF2 の核内発現も維持され、EMT 誘導時の TGIF2 発現抑制には PKM2 が関与していると考えられた。また、EMT 誘導時、TGIF2 タンパクの核内発現は抑制されたが、mRNA 発現は維持されており、TGIF2 は転写後分解を受けていると考えられた。プロテアソーム阻害剤 MG132 を用いて EMT 誘導を行ったところ、MG132 添加 HSC-4 において、TGIF2 の細胞質への発現が顕著となった。HEMT 誘導における TGIF2 発現減少には転写後のユビキチン・プロテアソーム系によるタンパク分解が関与していることが示唆された。</p> <p>PKM2 の増殖能および遊走能を解析するために Wound healing assay を行った結果、EMT 誘導時、対照群の閉鎖率は約 60%、PKM2 抑制細胞における閉鎖率は約 10%であった。また、Boyden chamber assay を行った結果、PKM2 抑制細胞においては遊走能、浸潤能ともに有意に低下していた。すなわち、核内 PKM2 は癌細胞において、増殖、遊走、浸潤能を促進し、癌の進展に関与することが考えられた。</p> <p>PKM2 および TGIF2 の機能を制御することで口腔癌の浸潤・増殖を阻害できる可能性が示唆された。</p>	