

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20518

研究課題名(和文) AQPs阻害による癌細胞の増殖・浸潤・転移の抑制とそのメカニズムの解明

研究課題名(英文) Analysis of growth, invasion and metastasis suppression mechanism in cancer cell due to AQP's inhibition

研究代表者

石本 俊介 (Ishimoto, Shunsuke)

大阪大学・歯学研究科・招へい教員

研究者番号：40585725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：AQP3・AQP5は水チャネルとして水透過性に関与するが、近年、皮膚癌や肺小細胞癌など種々の癌組織においても高発現していることが報告された。我々はヒト口腔扁平上皮癌組織においてもAQP3・AQP5が高発現していることを見出し、AQPsの口腔扁平上皮癌における発現とその役割について、培養細胞を用いたin vitroの系およびヒト組織切片におけるAQPsの発現を検討した。癌細胞におけるAQP3およびAQP5の発現は、インテグリンを介したMAPK経路の活性化を維持することで、癌細胞増殖に関わっていると推測される。AQPとそのシグナルが、扁平上皮癌の細胞増殖に重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Aquaporins (AQPs) are a membrane protein family involved in the selective transport of water across cell membranes. Recent studies have reported the expression of AQPs in several tumor types such as gastric, pulmonary, ovarian, pancreatic and colorectal cancer. We investigated the expression of AQP3 and AQP5 in human oral SCC. Overexpression of both AQP3 and AQP5 were immunohistochemically observed on tumor cells in SCC. Treatment with Pan-AQP inhibitor or specific AQP3-siRNA and AQP5-siRNA showed inhibition of cell growth in SCC cell lines via the inhibition of integrins and the mitogen-activated protein kinase pathway. AQPs play important roles in cell growth in SCC.

研究分野：口腔外科学

キーワード：臨床腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

当教室ではこれまで、核内受容体である Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR) の、扁平上皮癌細胞の増殖・浸潤における役割について検討し、多くの論文で報告している (J Pharmacol Sci. 2009 Jul ;110(3):344-53. Cancer Sci. 2007 May;98(5):636-43. Clin Cancer Res. 2005 Jun 1;11(11):4012-21.)。この PPAR は本来、脂肪細胞の分化やインスリン感受性に重要な役割を果たす核内受容体であるが、癌細胞に高発現しその転写調節により多くの分子の発現を制御することで、癌細胞の増殖・浸潤・転移に重要な影響を及ぼすことが明らかになってきた。当教室では最近、PPAR によって発現が制御されている遺伝子を、DNA microarray を用いて網羅的に解析することを試みた。その結果、扁平上皮癌や大腸癌といった種々の癌細胞で PPAR により発現が制御されている分子の一つとして、Aquaporin3 (AQP3)および Aquaporin5 (AQP5)が見出された。

この AQP3・AQP5 は水チャネルとして水透過性に関与する Aquaporins (AQPs) family のひとつであるが、近年、皮膚癌や肺小細胞癌など種々の癌組織においても高発現していることが報告された (Mol Cell Biol. 2008 Jan;28(1):326-32. Hum Pathol. 2007 Jan;38(1):171-8.)。AQP と疾患との関連性については白内障や腎性尿崩症が知られているが、癌細胞における役割については不明な点が多いのが現状である。これらをもとに予備的検討を行ったところ、ヒト口腔扁平上皮癌組織において、AQP3・AQP5 が高発現していることを見出した。この結果は、DNA

microarray の結果を裏付けるものである。

2. 研究の目的

今回、AQPs の口腔扁平上皮癌における発現とその役割について、培養細胞を用いた in vitro の系およびヒト組織切片における AQPs の発現を検討し、明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ヒト舌扁平上皮癌組織に対し、抗 AQP3 抗体、抗 AQP5 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、その発現をスコア化し比較検討した。また、AQP3 の発現と AQP5 の発現との相関性を検討した。

(2) 培養細胞 (SAS, KYSE70) に対し、汎 AQP 阻害剤 (硫酸銅) を処置し、細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。細胞増殖の評価には、Countess Automated Cell Counter を用いた。

(3) 培養細胞 (SAS) に対し、AQP3 および AQP5 の特異的 siRNA を作用させ、細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。さらにウェスタンブロットティング法による mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路および integrin 5、integrin 1 のタンパク発現の変化を検討した。

4. 研究成果

抗 AQP3 抗体、抗 AQP5 抗体を用いた免疫組織化学染色の結果、染色を行った舌扁平上皮癌症例 24 例中 23 例において、癌部に AQP3、AQP5 の発現を認めた。一方、同一組織切片上の非癌部組織においては、発現はほとんど認めなかった。癌部、非癌部における AQP3 および AQP5 の発現強度をスコア化したところ、

癌部と非癌部の間で両者の発現強度に有意な差を認めた。24例の組織切片を分化度別に比較検討したところ、各群において顕著な差は認めなかった。同一症例の AQP3、AQP5 の発現をそれぞれプロットし相関性を比較検討したところ、両者の発現の間には正の相関を認めた。

培養細胞 (SAS, KYSE70) に対し、汎 AQP 阻害剤 (硫酸銅) を処置したところ、control 群と比べ、処置群は濃度依存的に有意な細胞増殖の抑制を認めた。

培養細胞 (SAS) に対し、AQP3 および AQP5 の特異的 siRNA を作用させたところ、有意な細胞増殖の抑制を認めた。また、MAPK 経路について検討を行ったところ、「FAK」・「Erk」の発現低下を認めた。さらに、「integrin 5」・「integrin 1」の発現低下も認めた。

癌細胞における AQP3 および AQP5 の発現は、インテグリンを介した MAPK 経路の活性化を維持することで、癌細胞増殖に関わっていると推測される。AQP とそのシグナルが、扁平上皮癌の細胞増殖に重要な役割を果たしていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yamamoto N, Sawai NY, Ishimoto S, Ogura H, Aikawa T, Kogo M, Okura M、Preventable Sternocleidomastoid Muscular Atrophy after Neck Dissection、Plastic and Reconstructive Surgery

Global Open、査読有、2015、Sep 4;3(9):e504

〔学会発表〕(計 6 件)

Shunsuke Ishimoto, Nao Yamamoto, Tomonao Aikawa, Mikihiro Kogo, Masaya Okura、Assessment of Sternocleidomastoid after Neck Dissection of Oral Cancer、第 39 回日本頭頸部癌学会・第 4 回アジア頭頸部癌学会、2015 年 6 月 3~6 日、神戸国際会議場

大西淑美、平岡慎一郎、伊藤加代子、脇條靖治、白石由美、近藤敬秀、外川健史、西野仁、正元洋介、石本俊介、大槻浩一、天野克比古、石橋美樹、藤井隆、石川淳、古郷幹彦、東山聖彦、がん化学療法中のインプラント周囲炎予防の意義、第 54 回日本癌治療学会学術集会、2016 年 10 月 20~22 日、パシフィコ横浜

石本俊介、小橋寛薫、石井庄一郎、薬師寺登、転移性骨腫瘍患者に対する骨吸収抑制薬投与前の歯科受診の有用性、第 61 回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会、2016 年 11 月 25 日~27 日、幕張メッセ

内橋俊大、須河内昭成、宮川和晃、高畑惣介、田中晋、中原寛和、石本俊介、相川友直、古郷幹彦、さまざまな浸潤転移様式を示す種々の口腔癌マウスモデルの作成、第 61 回(公社)日本口腔外科学会総会・学術大会、2016 年 11 月 25 日~27 日、幕張メッセ

石本俊介、石井庄一郎、薬師寺登、乳癌骨転移患者が MRONJ を発症し、硬膜外膿

瘍に進展し死亡に至った一例、第 28 回 N
P O 法人日本口腔科学会近畿地方部会、
2016 年 12 月 1 日、大阪薬業年金会館
内橋俊大，須河内昭成，平岡慎一郎，石
本俊介，古郷幹彦、ELAS1 ペプチドを用
いた口腔扁平上皮癌に対する新規治療法
の開発研究、第 35 回日本口腔腫瘍学会総
会・学術総会、2017 年 1 月 26 日～27 日、
福岡国際会議場

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石本 俊介 (Ishimoto Shunsuke)

大阪大学大学院歯学研究科 招へい教員

研究者番号：40585725