

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10305

研究課題名（和文）血小板活性化因子PAFの癌・非癌細胞での細胞増殖作用機構解明と

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of platelet-activating factor (PAF)-associated cell proliferation in cancer and non-cancer cells.

研究代表者

伊豫田 学 (Iyoda, Manabu)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40431746

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：血小板活性化因子（PAF）はPAF-Receptor（PAFR）と非常に高い親和性で結合し、炎症、発癌、腫瘍転移などに関与する。近年、PAFRの発現は癌微小環境を変化させ、一部の抗癌剤耐性の獲得に重要な役割を果たすのではないかと考えられている。しかし、口腔癌化学療法の標準薬であるシスプラチン（CDDP）の耐性への関与は未だ不明である。そこで本研究では、口腔扁平上皮癌（OSCC）においてPAFRの機能を介したCDDP感受性のメカニズムを解明し、その制御薬を探求した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において我々は、口腔扁平上皮癌（OSCC）におけるPAF/PAFR経路を介したシスプラチン（CDDP）感受性調節機構を明らかにした。CDDPは広範囲の癌に使用されるプラチナ系抗癌剤であり、OSCCにおいてもCDDPによる化学療法は効果的な治療ではあるが、抗癌剤に対する耐性の出現が治癒効果を大きく阻害する要因となっている。また、重篤な副作用と頻発する化学療法抵抗性のために、その臨床応用はしばしば制限され、治療において問題となっている。本研究ではPAFRがOSCCにおいてCDDPの感受性の調節に関与していることを示唆したため、価値ある研究と考える。

研究成果の概要（英文）：Platelet activating factor (PAF) binds to PAF-Receptor (PAFR) with high affinity and is involved in inflammation, carcinogenesis, and tumor metastasis. Recently, PAFR expression is thought to affect the cancer microenvironment and may play an important role in the acquisition of drug resistance for some anticancer drugs. However, its involvement in cisplatin (CDDP) resistance, the standard drug for oral cancer chemotherapy, is still unknown. In this study, we sought to elucidate the mechanism of PAFR function in CDDP sensitivity in oral squamous cell carcinoma.

研究分野：口腔科学

キーワード：口腔癌 PAF PAFR オート・クライン CDDP

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

癌細胞の増殖・浸潤・転移を制御することは、癌治療をする上で最大の課題となっている。特に、Stage が進行するとともに悪性度が増す現象が知られており、その原因やメカニズムは未解決な点が多い。申請者グループは、細胞が外分泌した因子が周囲細胞に作用するだけでなく、自己にフィードバックし、分泌細胞自体の特定の機能をさらに強めていくオート・クライン現象を起こす因子を検索した。その結果、血小板活性化因子 (PAF: Platelet activating factor) とそのレセプターである PAFR を選定し、本申請研究計画を立案した。

近年、PAF とそのレセプターである PAFR の発現が数種類の癌において有意に高発現していることが報告され、癌の進展に関与しているものと考えられるようになった。PAF は血小板だけでなく、血管内皮細胞や PAFR を細胞表面に発現する癌細胞にも結合し、作用を及ぼしている事が明らかになった。血小板に結合すると、血小板凝集を起こすだけでなく、腫瘍塞栓の形成を促す。血管内皮細胞に結合すると、その増殖性と運動性を増すだけでなく、血管透過性、血管新生能を高める。そして、PAFR を発現する癌細胞に結合すると、癌細胞の増殖性が増し、運動性や化学走化性、さらにはサイトカイン合成・放出能を高める。しかも、オート・クライン機能もあり、PAF を分泌している細胞自体も PAFR を発現していれば、さらに活性化 (悪性化) することが明らかになっている。

PAF と PAFR は癌の増殖・浸潤・転移や、抗癌剤に対する感受性などに重要な役割を果たしているにもかかわらず、癌における PAF と PAFR の発現状態と癌の進展能との関連性は未だ不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

本研究は、PAF とその受容体である PAFR のオート・クライン作用による癌の悪性循環による急激な進展度を明らかにするだけでなく、口腔扁平上皮癌 (OSCC) におけるシスプラチン抵抗性のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) OSCC における PAFR の発現状況と CDDP 感受性

7 種の OSCC 細胞株で PAFR 発現量を mRNA レベルおよびタンパクレベルで定量化した。また、CDDP で 48 時間処理した後の細胞生存率を MTS assay にて評価し、それぞれの OSCC 細胞における IC<sub>50</sub> の数値を算出した。

#### (2) PAFR 発現抑制株の作製

siRNA のトランスフェクションにより、PAFR 発現抑制株を作製し、PAFR 発現量を mRNA レベルおよびタンパク質レベルで定量化した。

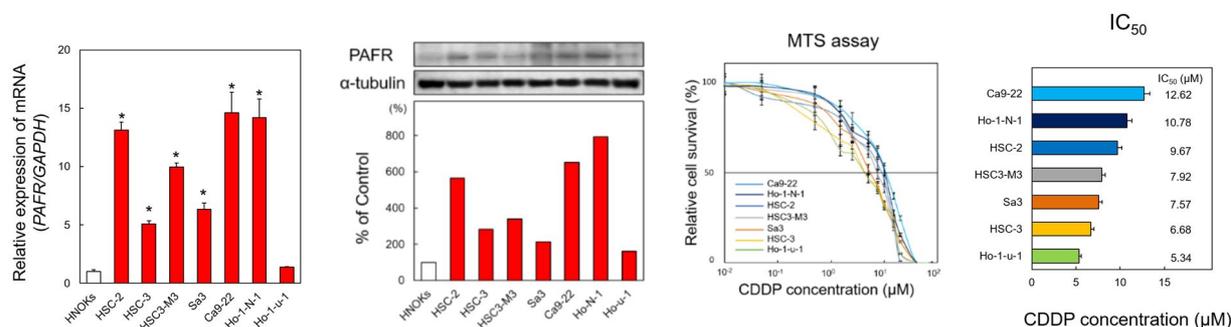
#### (3) PAFR 発現抑制株における CDDP 感受性の変化

作製した PAFR 発現抑制株を用いて、CDDP 感受性の変化を細胞増殖試験にて確認した。

### 4. 研究成果

#### (1) OSCC における PAFR の発現状況と CDDP 感受性

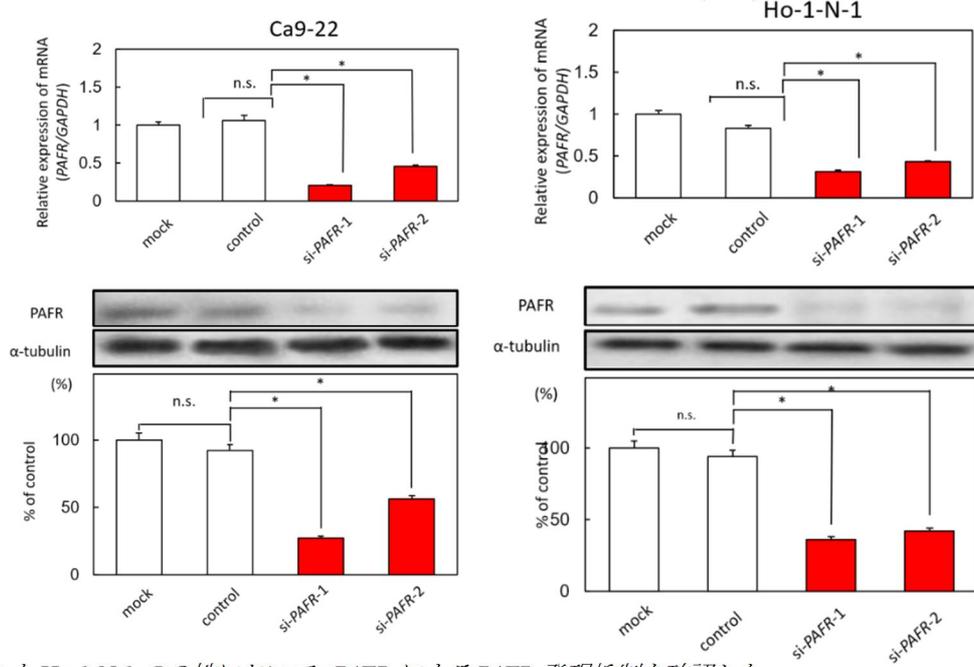
OSCC 細胞において PAFR の発現量が高いほど CDDP に対する感受性が低いという、PAFR 発現量と CDDP 感受性との間に相関関係を認めた (下図)。



上記結果から、Ca9-22 細胞と Ho-1-N-1 細胞の 2 株を選出し、この後の実験を行った。

## (2) PAFR 発現抑制株の作製

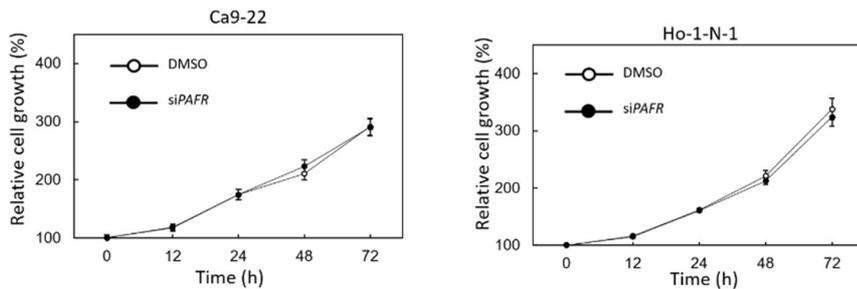
Ca9-22 と Ho-1-N-1 に siRNA を用いて PAFR 発現抑制株を作製した。Ca9-22 と Ho-1-N-1 に siPAFR を導入し PAFR の発現減弱を mRNA およびタンパクレベルで確認した(下図)。



Ca9-22 と Ho-1-N-1 の2株において siPAFR による PAFR 発現抑制を確認した。

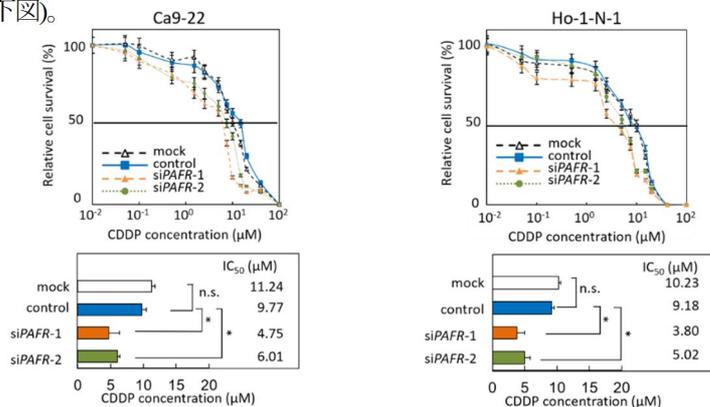
## (3) PAFR 発現抑制株における CDDP 感受性の変化

PAFR 発現抑制株における細胞増殖能の変化  
siPAFR 導入後の細胞増殖能について MTS assay を用いて確認した(下図)。



Ca9-22 と Ho-1-N-1 の2株において、siPAFR 導入後の細胞増殖は、コントロールとの間に有意差は認めず、PAFR 発現抑制は細胞増殖に影響を与えてないと考えられた。

PAFR 発現抑制株における IC<sub>50</sub> の変化  
CDDP に対する IC<sub>50</sub> の変化は、control と比較して siPAFR 導入後の細胞において CDDP に対する IC<sub>50</sub> の減少を認めた(下図)。



これらの結果から、PAFR の発現を抑制すると、OSCC 細胞における CDDP 感受性が高められると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	丹沢 秀樹  (Tanzawa Hideki)  (50236775)	千葉大学・真菌医学研究センター・特任教授   (12501)	
研究分担者	中嶋 大  (Nakashima dai)  (50431747)	千葉大学・大学院医学研究院・助教   (12501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関