

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19217

研究課題名（和文）フェロトーシスを利用した口腔がん治療

研究課題名（英文）Development of ferroptosis use to treatment in oral squamous cell carcinoma

研究代表者

石川 敬彬（Ishikawa, Hiroki）

大阪歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：00825292

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では口腔癌の癌制御におけるフェロトーシス誘導剤の有用性について検討を行った。フェロトーシス誘導剤Erastinは口腔扁平上皮癌細胞株SASおよびHSC-2にフェロトーシスを誘導することが分かった。さらに、がんの悪性度の向上に貢献する上皮間葉転換の形質を持った口腔扁平上皮癌細胞はErastinによるフェロトーシス誘導の感受性が高いことが分かった。これらの結果から、上皮間葉転換を利用して高度な浸潤・転移を起こす高悪性度の口腔癌の制御にフェロトーシスを利用した治療が有効である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、口腔癌患者は増加傾向を辿っている。口腔癌の切除療法は審美面、摂食嚥下機能などの多様な日常生活機能の著しい障害を伴う。そのため、保存的な治療法の開発が望まれている中で、本研究の成果は口腔癌の保存的治療として活用される化学療法薬の新たな選択肢としてフェロトーシス誘導剤が有用となる可能性を示した。また、さらにその効果が進行癌に対して通常より感受性が高い可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：In this study, I investigated that ferroptosis inducing was useful in treatment strategy of oral squamous cell carcinoma. Erastin, which is ferroptosis inducer, induced ferroptosis in oral squamous cell carcinoma cells SAS and HSC-2. Furthermore, oral squamous cell carcinoma cells with mesenchymal condition by epithelial-mesenchymal transition was more sensitive to ferroptosis than normal condition. These results suggested that ferroptosis inducing drugs may be useful to anti-cancer drug in treatment of advanced oral squamous cell carcinoma with invasion and metastasis.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 フェロトーシス

1. 研究開始当初の背景

口腔は摂食・嚥下・審美などの多種多様な機能が搭載された顎顔面器官である。そのため、口腔癌の切除療法はこれらの機能の著しい障害が生じる。そこで、化学療法薬等での保存的治療での根治が望まれている。特に最近では分子標的薬などを用いたがん分子標的治療の研究開発が広く行われている。

フェロトーシスは近年発見された新たな細胞死であり、これまでによく知られていたアポトーシスやネクローシスなどの細胞死とは異なった特徴を示す。フェロトーシスは細胞内の活性酸素や過酸化脂質の増加によって引き起こされる。既存の化学療法薬はアポトーシスなどの既知の細胞死を誘導することで癌細胞の制御を行うものが多いが、癌細胞の種類によっては耐性を示すものが多く存在する。このようなアポトーシスへの耐性を示す癌細胞にもフェロトーシスは誘導されることが分かっており、フェロトーシス誘導剤は新たな化学療法薬として注目を浴びている。

2. 研究の目的

本研究では、新たに発見された細胞死であるフェロトーシスの誘導の口腔癌制御における有効性を明らかにすることでフェロトーシスを利用した口腔癌治療の開発基盤を確立する。

3. 研究の方法

(1) ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 SAS および HSC-2 に対して xCT 阻害剤 Erastin の投与を行い、細胞生存率、活性酸素種の産生、xCT・Glutathione Peroxidase 4 (GPX4) のタンパク発現量および mRNA 発現量を測定した。対照コントロールは Erastin 投与を行わなかった SAS および HSC-2 の群とした。

(2) SAS および HSC-2 に Transforming Growth Factor- β (TGF- β) の投与・培養後に上皮間葉転換 (EMT) 関連タンパク発現量および遺伝子の mRNA 発現量を測定することで、SAS および HSC-2 の TGF- β 刺激による間葉性性質への変化を確認した。その後、TGF- β 刺激にて間葉性性質となった SAS および HSC-2 に Erastin を投与して細胞生存率を測定した。対照コントロールは TGF- β 刺激を行わなかった SAS および HSC-2 の群とした。

4. 研究成果

(1) Erastin 投与によってヒト口腔扁平上皮癌細胞株 SAS および HSC-2 でフェロトーシスが誘導された。

SAS および HSC-2 はともに Erastin によって細胞増殖が阻害されることが示され、さらに Erastin の細胞増殖の阻害効果はフェロトーシス阻害剤 Ferrostatin-1 によって阻害された(図 1A,B)。また、Erastin の投与により SAS および HSC-2 の細胞内の活性酸素量は増加した(図 1C)。

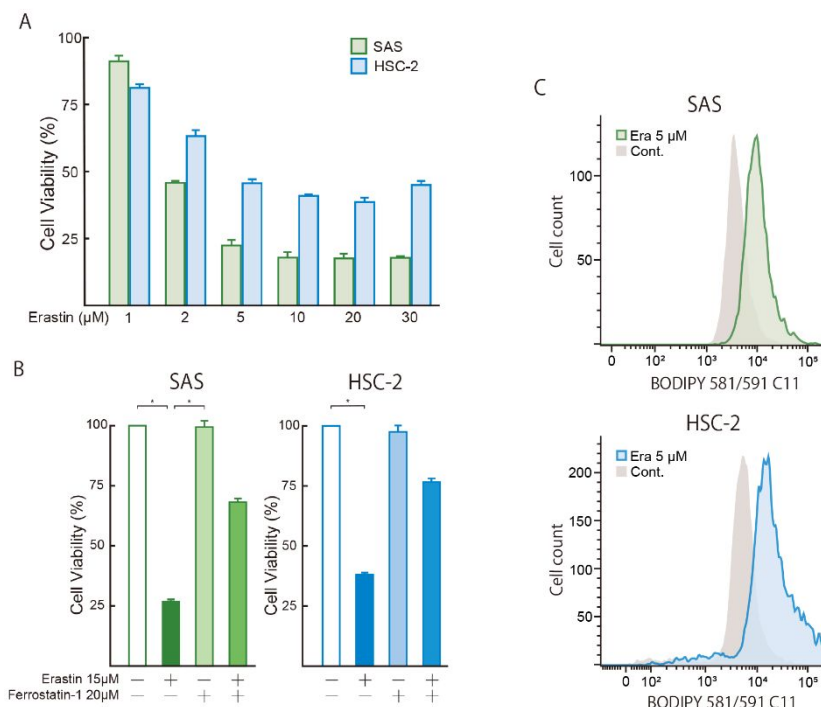


図 1

次に、SAS および HSC-2 に Erastin の投与によって xCT のタンパクおよび mRNA 発現量は濃度依存的に減少していた (図 2A)。一方で、GPX4 のタンパクおよび mRNA 発現量は濃度依存的に減少していた (図 2B)。xCT は Erastin によって機能異常を受けることで、代償的に発現増加することが分かり、その結果として抗酸化機構の中心的役割を果たす GPX4 の産生は抑制されることが分かった。

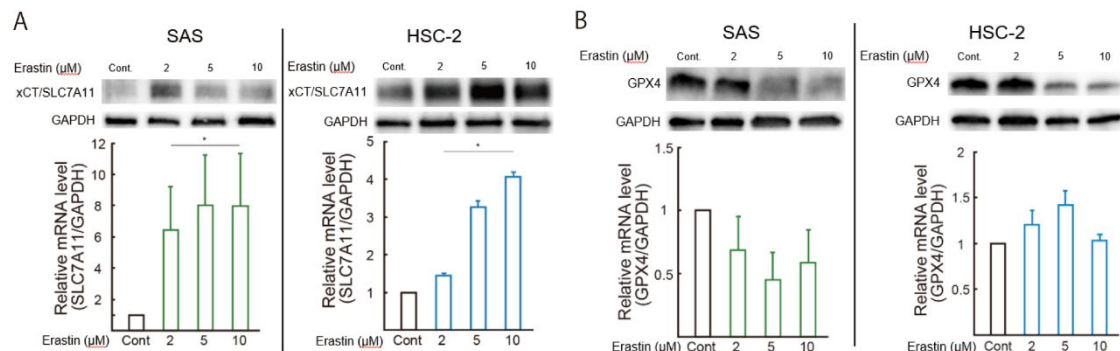


図 2

これらの実験結果から、xCT 阻害剤である Erastin は口腔癌細胞 SAS および HSC-2 に対してフェロトーシスを誘導することで、口腔癌細胞の増殖抑制・殺細胞効果が期待できることが分かった。

(2) 上皮間葉転換 (EMT) によって間葉性の形質獲得をしたヒト口腔扁平上皮癌細胞株 SAS および HSC-2 はフェロトーシスの対する感受性が増加していた。

SAS および HSC-2 に対して TGF- β を投与して一定時間の培養後に、間葉系性質のマーカーとなる Vimentin、N-cadherin および Slug のタンパク発現量および mRNA 発現量の増加を認めた (図 3)。これは SAS および HSC-2 は TGF- β 刺激によって EMT による間葉系性質の獲得が起こることを意味する。

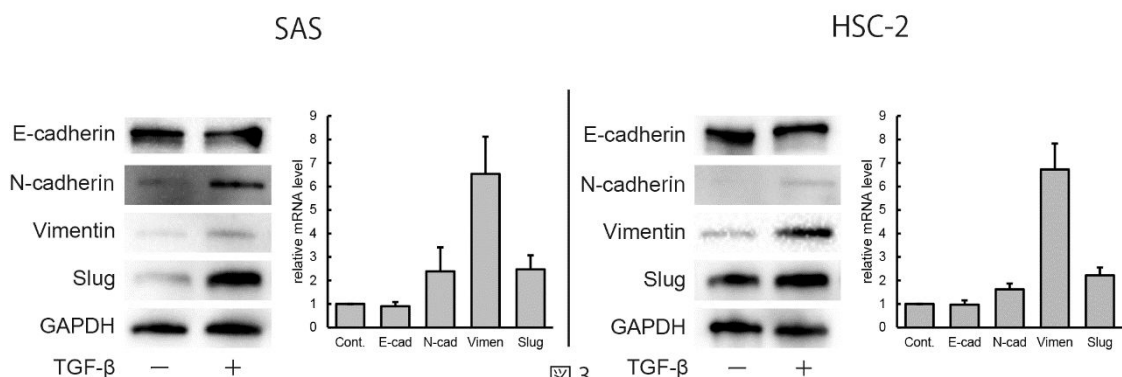


図 3

次に、一定時間の TGF- β 刺激を行った SAS および HSC-2 は、TGF- β 刺激を行わなかった細胞群と比較して Erastin によってより大きな細胞生存率の低下が認められた (図 4)。

これらの実験結果から、EMT によって間葉系性質を得たヒト口腔扁平上皮癌細胞株 SAS および HSC-2 はフェロトーシスによって上皮性の性質時と比較してより大きな増殖抑制・殺細胞効果を受けることが分かった。

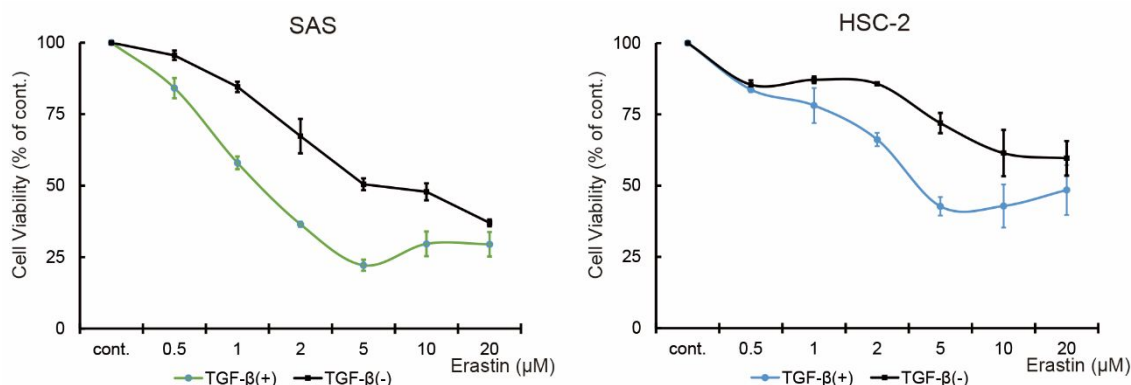


図 4

EMT は上皮細胞が極性喪失・細胞接着力の低下などを引き起こすことで間葉系性質を獲得する現象であり、上皮系細胞原発のがん細胞の浸潤増殖や転移に深く関わっているとされている。通常、EMT にて転移能を獲得している生体がん保持患者の予後は悪いとされている。上記の結果から、口腔癌細胞に対してフェロトーシス誘導が癌制御法として利用できる可能性があることと、EMT によって転移能が高くなっているがんやがん転移巣へもフェロトーシス誘導剤が化学療法薬として有用である可能性を見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hiroki Ishikawa, Kaname Tsuji, Kazuya Matsuse, Norifumi Takasugi, Marina Kitayoshi, Hayato Ikeda, Akio Himejima, Hiroaki Yoshida, Masahiro Wato, Tomio Iseki	4. 巻 32
2. 論文標題 White sponge nevus mimicking intraoral white lesion on the buccal mucosa: A case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	6. 最初と最後の頁 300-302
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajoms.2020.04.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroki Ishikawa, Norifumi Takasugi, Akio Himejima, Kaname Tsuji, Hiroaki Yoshida, Tomio Iseki	4. 巻 56
2. 論文標題 Artesunate induces apoptosis through irondependent oxidative stress in oral squamous cell carcinoma cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Osaka Dental University	6. 最初と最後の頁 99-105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18905/jodu.56.1_99	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------