

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：11401  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21791590  
 研究課題名（和文） 頭頸部癌の浸潤・転移における変異 EGFR（EGFR v III）の関与と機序の解析  
 研究課題名（英文） The role of EGFRvIII for HNSCC invasion and metastasis

研究代表者  
 鈴木 真輔（SUZUKI SHINSUKE）  
 秋田大学・医学部・講師  
 研究者番号：90312701

## 研究成果の概要（和文）：

本研究ではEGFRと、その刺激によって発現が亢進し腫瘍の浸潤・転移に重要な働きを持つMMPおよびこのMMPの発現誘導因子であるEMMPRIN/CD147との関連性に着目した。研究の結果、EMMPRINがEGFR刺激によって引き起こされるMMP産生促進などの腫瘍形成能を媒介している可能性が示唆された。またEMMPRINは炎症や癌促進の因子として知られていたCyclophilin Aとの相互作用により頭頸部癌細胞の浸潤など腫瘍形成能を引き起こすことが明らかとされた。

## 研究成果の概要（英文）：

This study revealed that EMMPRIN mediates HNSCC tumorigenicity such as MMP expression that induced by EGFR stimulation. In addition, the results suggest EMMPRIN induces HNSCC progression by its interaction with Cyclophilin A.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科

キーワード：癌，頭頸部癌，EGFR，EMMPRIN

## 1. 研究開始当初の背景

上皮成長因子受容体（Epidermal Growth Factor Receptor; EGFR）はチロシンキナーゼ型受容体で、細胞膜を貫通して存在する糖タンパクである。EGFRは成長因子（EGF）などのリガンドが結合することにより活性化され、細胞内シグナル伝達を主な経路として細胞の分化、増殖に関与する。EGFRは生体内における様々な細胞で発現しており、正常組織における細胞の分化、発達、増殖、維持の調節に重要な役割を演じているが、このEGFR

に遺伝子増幅や遺伝子変異、構造変化が起きると、発癌、および癌の増殖、浸潤、転移などに関与するようになることが知られている。EGFRの過剰発現は各種の癌で報告されているが、特に頭頸部癌においてはその95%以上の症例でEGFRの発現亢進が認められ、このEGFRの過剰発現が頭頸部扁平上皮癌の予後不良因子となることが報告されている。これらの特性から、頭頸部癌の治療においてEGFRを標的とした各種薬剤の効果が期待されていたが、臨床使用においてはその単剤で

の効果が十分に得られないことが報告された。この原因として、EGFR 変異体のひとつである EGFR variant III (EGFRvIII) の存在が報告されている。EGFRvIII はリガンド結合部を欠損し、野生型 EGFR と異なり、リガンドの結合なしに恒常的にシグナル伝達を促進することが知られている。頭頸部癌における EGFRvIII の発現は薬剤への耐性のほか、癌細胞の分化、増殖などを亢進させることから、今後の頭頸部癌治療において EGFR やこの変異体である EGFRvIII の機能や他の癌促進因子との関連性のさらなる解明が注目されている。

## 2. 研究の目的

EGFR およびその変異体である EGFRvIII は頭頸部癌細胞の増殖、腫瘍増大ならびに薬物耐性などを促進することが知られているが、その詳細な生理学的機能およびこれら癌進展を引き起こす機序、また他の癌促進因子との関連性についてはその重要性が注目されているものはいまだ明らかとされていない。今回の研究では、頭頸部癌において EGFR により誘導される悪性現象および標的分子、および EGFR と他の癌促進因子との関連性を明らかとし、これらが頭頸部癌治療の重要な標的となりうることを検証する。

## 3. 研究の方法

研究にはヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株を用いた。蛋白質の発現をウェスタンブロット法にて、Matrix Metalloproteinase (MMP) の発現を Gelatin Zymography 法にてそれぞれ測定した。また細胞増殖および薬剤耐性を MTT 法にて測定し、細胞浸潤能を invasion chamber を用いて測定した。また標的とする蛋白質の発現抑制は siRNA 法を用いた。これらの手法を用いて、癌進展において重要な働きをもつ MMP およびこの誘導因子である EMMPRIN の発現に対する EGFR の関与を検討した。

## 4. 研究成果

EGFR は様々な悪性腫瘍においてその発現が亢進し、細胞内シグナル伝達を介して腫瘍の進展に寄与することが知られている。近年 EGFR を標的とした治療法の開発が進められてきたが、頭頸部癌では EGFR を標的とする薬剤の治療効果が十分でないことが報告され、治療成績向上のために頭頸部癌における EGFR による腫瘍進展機序や関連因子の検討が必要とされた。これまでに EGFR の変異体である EGFRvIII による腫瘍形成能の亢進が報告されたが、本研究では EGFR により発現が亢進し、腫瘍の浸潤・転移に重要な働きを持つ MMP と、この MMP の発現誘導因子である

EMMPRIN/CD147 に着目した。まず複数の頭頸部癌細胞株における EMMPRIN の発現をウェスタンブロット法にて検出。いずれの細胞株においても EMMPRIN が発現していることを確認した。この頭頸部癌細胞に EMMPRIN の刺激因子である Cyclophilin A を作用させ、その腫瘍形成に関連した諸現象を観察した。この結果、Cyclophilin A は頭頸部癌細胞の増殖および MMP-9 の産生を亢進し、さらにシスプラチンへの耐性を向上させることが明らかとなった。また、Cyclophilin A により細胞浸潤能の亢進も観察されたが、この浸潤能は EMMPRIN の機能阻害抗体により抑制された。この結果は Cyclophilin A が EMMPRIN を介して頭頸部癌細胞の腫瘍形成能を促進することを示唆する。引き続き、EGFR と EMMPRIN との相関関係につき検討を行った。EGFR の刺激因子である EGF を頭頸部癌細胞に作用させた結果、EGF は EMMPRIN の発現を亢進させることが確認された。また EGF は頭頸部癌細胞からの MMP-9 産生と細胞浸潤能を亢進させることが明らかとなったが、EMMPRIN の発現を small interfering RNA (siRNA) にて抑制すると、この MMP-9 産生と細胞浸潤能の亢進が抑制された。これらの結果は、EGFR 刺激によって引き起こされた腫瘍形成能を EMMPRIN が媒介している可能性を示唆するものである。これらの成果は国内外の学会にて報告され、また一部の内容は英文誌に投稿掲載された。

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)

① Masafumi Takahashi, Shinsuke Suzuki, Kazuo Ishikawa

Cyclophilin A-EMMPRIN interaction induces invasion of head and neck squamous cell carcinoma

Oncol Rep. 27: 198-203, 2012.

[学会発表] (計7件)

① 鈴木真輔, S.M. Thomas, S.E. Morgan, J.R. Grandis. 頭頸部扁平上皮癌細胞の遊走および浸潤に対するEGFRvIIIの関与: 第33回頭頸部癌学会 6月, 札幌, 2009

② 鈴木真輔, 高橋雅史, 石川和夫: 頭頸部扁平上皮癌におけるEMMPRIN/CD147の発現とCyclophilin Aの作用. 第111回日本耳鼻咽喉科学会総会 5月, 仙台, 2010

③ 鈴木真輔, 高橋雅史, 石川和夫: 頭頸部扁平上皮癌におけるEMMPRIN/CD147の発現とCyclophilin Aの作用. 第59回日耳鼻東北地方部会連合学術講演会 7月, 秋田, 2010

④ 鈴木真輔, 高橋雅史, 石川和夫: 頭頸部扁平上皮癌におけるEMMPRINとEGFRの関係. 頭頸部癌学会 6月 名古屋, 2011

⑤ 高橋雅史, 鈴木真輔, 石川和夫: 頭頸部癌におけるEMMPRINの発現とcyclophilin Aの働き. 頭頸部癌学会 6月 名古屋, 2011

⑥ Shinsuke Suzuki, Masafumi Takahashi, Kazuo Ishikawa: Cyclophilin A induces head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) invasion by its interaction to EMMPRIN/CD147. AACR 102<sup>nd</sup> Annual Meeting 2011 April 2-6, Orlando FL, 2011

⑦ Shinsuke Suzuki, Masafumi Takahashi, Kazuo Ishikawa 11<sup>th</sup> Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Dec 8-9, Kobe  
EMMPRIN expression is induced by EGFR stimulation in HNSCC

[図書] (計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木真輔 (SUZUKI SHINSUKE)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：90312701

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：