

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21085

研究課題名(和文) 口腔癌の進展と転移におけるEMTおよびCSC形質誘導機序の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of EMT and CSC trait induction in oral cancer progression and metastasis

研究代表者

岸本 聡子(Kishimoto, Satoko)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：70912228

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトOSCC細胞のマウス頸部リンパ節高転移株(V-SAS-LM8)においてはWnt5bの発現が上昇しており、Wnt5bはEMTの亢進およびCSC形質の獲得に寄与している。がん遺伝子とされるGATA6をV-SAS-LM8に過剰発現させたところEMT誘導が抑制され、Wnt5bの発現も減少した。一方で、Wnt5bの受容体発現についてはGATA6の影響は確認できなかった。ヒトOSCC細胞におけるWnt5bの発現はGATA6のEMT誘導抑制機構と関与している可能性が示唆されたが、受容体の発現は、GATA6とは別の機構により制御されているか、あるいはWnt5bの濃度依存的に変動すると思われる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、EMTが亢進しているヒトOSCC細胞のマウス頸部リンパ節高転移株において高発現を認めたWnt5bに着目することにより、口腔癌におけるWnt5bの腫瘍進展ならびに転移への関与についての分子基盤の一端を明らかにしようとするものである。

本研究により、Wnt5bはEMTの亢進だけでなくCSC形質を誘導する可能性が示唆された。また、がん遺伝子とされるGATA6によりEMTとWnt5bの発現が抑制されることが見いだされた。口腔癌治療において、Wnt5bだけでなく、その制御因子としてのGATA6をも標的とする新規の治療法開発への基礎を築くことが期待できる。

研究成果の概要(英文)：In a mouse cervical high lymph node metastatic cell line established from human OSCC cell line (V-SAS-LM8), the expression of Wnt5b is upregulated, and Wnt5b contributes to the enhancement of EMT and the acquisition of CSC trait. Overexpression of the putative oncogene GATA6 in V-SAS-LM8 suppressed EMT induction and decreased Wnt5b expression. On the other hand, no effect of GATA6 on Wnt5b receptor expression was observed. It was suggested that the expression of Wnt5b in human OSCC cells may be involved in the suppression of EMT induction by GATA6, but the expression of its receptor may be regulated by a mechanism other than GATA6, or may fluctuate in a Wnt5b concentration-dependent manner.

研究分野：癌転移

キーワード：口腔癌 Wntシグナル EMT(上皮間葉転換) CSC(癌幹細胞様細胞) GATA6

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔癌は高い局所浸潤性とリンパ節転移能を有し、予後を大きく左右する (Sasahira T. et al (2014) : Int J Clin Oncol 19, 431-436)。癌細胞が進展、転移を生じるメカニズムのひとつに、EMT の促進が挙げられており、EMT は様々なシグナル伝達経路により誘導されることが知られている。そのひとつに Wnt シグナル伝達経路がある (Talbot L. et al (2012) : Int J Biochem Mol Biol 3, 117-136)。申請者が所属する教室では、これまでに、ヒト OSCC 細胞のマウス頸部リンパ節高転移株 (V-SAS-LM8) を樹立したが (Morita Y. et al (2012) : Int J Oncol 41, 885-892、Morita Y. et al (2015) : Clin Exp Metastasis 32, 739-753) 親株と比較して、高転移株には Wnt5b の発現が亢進していることを見出している (Takeshita A. et al (2014) : Int J Oncol 44, 59-68)。また、Wnt シグナル経路伝達は、CSC (癌幹細胞様細胞) の自己複製や維持を制御するとされ (Many A. M. et al (2014) : PLoS One 9, 1-9) 癌細胞に対し EMT を誘導すると CSC 形質を獲得することが報告されている (Mani, S. A. et al (2008) : Cell 133, 704-715)。両者が癌の進展や転移に大きく寄与すると考えられているがその詳細は明らかになっておらず、この解明が癌治療の進展における基礎の一部として必要とされている。

2. 研究の目的

本研究は、ヒト OSCC 細胞のマウス頸部リンパ節高転移株において高発現を認めた Wnt5b に着目し、その挙動を解析することにより、口腔癌における Wnt5b の腫瘍進展ならびに転移への関与についての分子基盤の一端を明らかにしようとするものである。Wnt シグナル伝達経路の活性化は、CSC 数の増大や恒常性を調節し転移に寄与するとされているが、ここに Wnt5b がどのように関係、作用するかは明らかになっていない。本研究により、口腔癌治療において、Wnt5b を標的とする新規の治療法開発への基礎を築くことが期待できる。

3. 研究の方法

RT-PCR 法においてヒト OSCC 細胞のマウス頸部リンパ節高転移株 (V-SAS-LM8) で発現の上昇が認められた Wnt5b について、その親株であるヒト OSCC 細胞の SAS 細胞と、V-SAS-LM8 における Wnt5b の発現を RT-qPCR 法で確認した。また Wnt5b の受容体とされている Frizzled 受容体および ROR2 受容体も同様に RT-qPCR 法にて定量的に検討した。

次に悪性腫瘍の種類によってはがん遺伝子として機能する可能性が示唆されている GATA6 を過剰発現させて EMT 関連遺伝子発現の変化と Wnt5b の発現を RT-qPCR 法で解析した。また 免疫細胞染色で E-cadherin と Vimentin の発現を比較した。

CSC 形質の誘導については、SAS 細胞に外的に Wnt5b を作用させ、CSC マーカーの変動を flow cytometry 法で解析した。

4. 研究成果

(1) ヒト OSCC 細胞のマウス頸部リンパ節高転移株における Wnt5b とその受容体の発現
V-SAS-LM8 においては Wnt5b の発現が上昇しており (Fig.1) さらに細胞濃度依存的に Wnt5b の発現量が増加する傾向にあった。また、Frizzled 受容体および ROR2 受容体も同様の傾向が認められた (Fig.2)

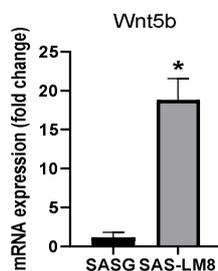


Fig.1

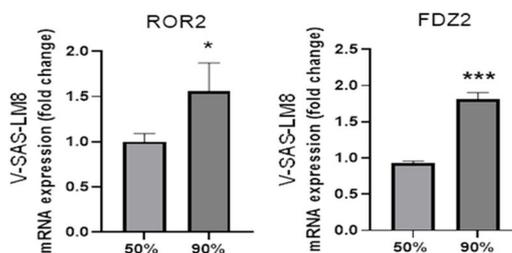


Fig.2.

(2) GATA6 による EMT 関連遺伝子の変化

悪性腫瘍の種類によってはがん遺伝子として機能する可能性が示唆されている GATA6 を V-SAS-LM8 に過剰発現させたところ、EMT 誘導を抑制する方向に変化した (Fig.3.)

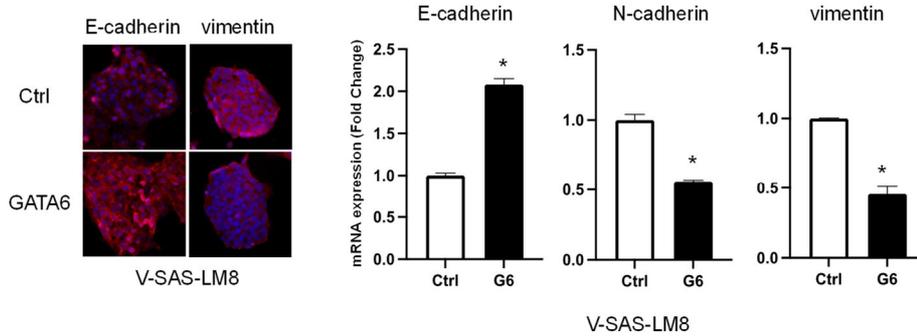


Fig.3

(3) GATA6 過剰発現株における Wnt5b と受容体の発現の変化

GATA6 を V-SAS-LM8 に過剰発現させたところ、Wnt5b の発現は減少していることが明らかとなった (Fig.4)。一方で、Frizzled 受容体および ROR2 受容体の発現については GATA6 の過剰発現による影響は確認できなかった。

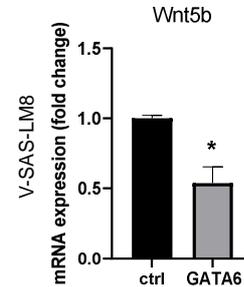


Fig.4

(4) Wnt5b による CSC マーカーの変化

Wnt5b 処理した SAS 細胞について、幹細胞マーカーの変化を flow cytometry 法で解析したところ、CD44 あるいは CD133 陽性細胞数は増加傾向にあった (Fig.5)。

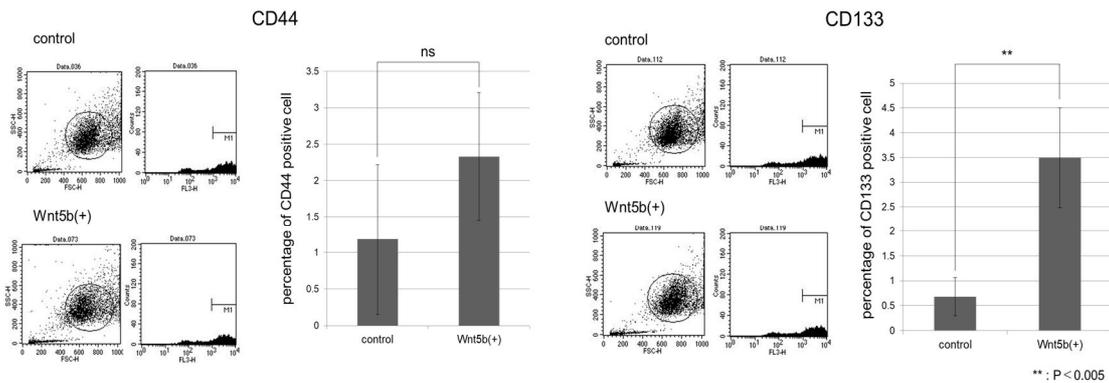


Fig.5

以上から、ヒト OSCC 細胞における Wnt5b の発現は GATA6 の EMT 誘導抑制機構と関与している可能性が示唆された。また、Wnt5b の受容体である Frizzled 受容体および ROR2 受容体の発現は、GATA6 とは別の機構により制御されているか、あるいは Wnt5b の濃度依存的に変動すると考えられた。

今後は、さらに in vitro にて GATA6 や Wnt シグナル経路および CSC 形質獲得に関与する制御因子を探索しながら、in vivo モデルにおいてもこれらの細胞の挙動について研究を進めていく予定である。

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

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