

## 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 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22592100

研究課題名（和文） 上皮間葉転換および幹細胞関連分子発現プロファイルに基づく口腔扁平上皮癌の新分類

研究課題名（英文） New classification of oral squamous cell carcinoma based on the molecular expression profile controlling the epithelial mesenchymal transition and stem cell-like characteristics.

研究代表者

筋生田 整治 (ASODA SEIJI)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：80296706

研究成果の概要（和文）：

上皮間葉転換および幹細胞様性質は癌の悪性度及び治療抵抗性を規定する重要な現象であり、CD44 は多くの上皮性腫瘍における代表的な癌幹細胞様マーカーとされている。われわれは、CD44 のバリエーションアイソフォーム(CD44v)を発現している口腔扁平上皮癌細胞が、シスチントランスポーターである xCT の活性に依存し、その酸化還元状態を制御していることを示した。さらに、xCT を標的とする治療により CD44v 陽性である未分化癌細胞が減少し、分化傾向の高い細胞では EGFR 標的治療を含む従来の治療への感受性が高まることがわかった。

研究成果の概要（英文）：

Epithelial mesenchymal transition (EMT) and stem cell-like characteristics are important phenomena for predicting the degree of malignancy and treatment resistance of oral squamous cell carcinoma (OSCC). CD44 is a major marker for stem-like cancer cells in many epithelial tumors. We show that oral squamous cell carcinoma cells that express variant isoforms of CD44 (CD44v) rely on the activity of the cystine transporter subunit xCT for control of their redox status. xCT-targeted therapy may deplete CD44v-expressing undifferentiated OSCC cells and concurrently sensitize the remaining differentiating cells to available treatments including EGFR-targeted therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学、病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：実験腫瘍学、腫瘍生物学

## 1. 研究開始当初の背景

口腔癌治療において十分な予後判定は困難であるが、術前に化学療法や放射線療法の感受性が判定できれば、感受性の低い腫瘍には手術療法を適用し、感受性の高い腫瘍には臓器温存可能な化学放射線療法を適用するといった個別化治療が可能となる。

そこでわれわれは、口腔癌において分子生物学的アプローチによる悪性度判定を実現させるために、上皮間葉転換および幹細胞様性質に着目してトランスレーショナルリサーチを行うこととした。

## 2. 研究の目的

上皮間葉転換 (epithelial mesenchymal transition: EMT) および幹細胞様性質 (stem cell-like characteristics) は癌の悪性度及び治療抵抗性を規定する重要な現象である。本研究では、口腔扁平上皮癌においてすでにわれわれが特定した 10-20 の候補分子群の発現を解析し、再発・転移や化学放射線療法の有効性を予測できる発現プロファイルを構築することを目的とする。さらに、プロファイルに基づく口腔扁平上皮癌の新たな分類と、予知性の高い治療法の確立を目指す。

## 3. 研究の方法

CD44, E-cadherin, 各種keratin, twist,

snail, vimentin,  $\beta$ -catenin,

N-cadherin, integrin, などの候補分子群の中から、頭頸部癌における幹細胞マーカーとの報告があるCD44について解析を進めた。はじめに舌癌の各組織型について、また予後良好群・不良群においてCD44の免疫染色を行い、CD44 (特にバリエーションタイプ) の高発現を確認した。続いて、口腔扁平上皮癌細胞株と担癌マウスモデルを用いて、Western blotting、免疫染色、薬剤感受性試験を行い、CD44v-xCTの機能的役割について解析を行った。さらに、xCT特異的阻害剤であるスルファサラジンを用いて口腔癌細胞によるマウス皮下腫瘍に対する抗腫瘍効果を確認した。

## 4. 研究成果

in vitro における CD44-xCT の解析にて、CD44v の発現量は GSH 合成量に相関し、その違いで抗癌剤感受性が変わることを見出した (図 1, 2)。さらに、CD44v が高発現し、GSH 量の高い口腔扁平上皮癌細胞株では、従来の抗癌剤 (cisplatin: CDDP) 感受性が低く、xCT の特異的阻害剤であるスルファサラジン投与が効果的であることが明らかとなった。またスルファサラジンは、CD44v 陽性腫瘍細胞に対しては細胞死を誘導するが、分化マーカーを発現する CD44v 陰性細胞に対しては影響しないことが示された。さらに、これらの xCT 依存性の低い CD44v 陰性細胞では、上皮成長因子受容体 (EGFR) の活性化が顕著に認められ、EGFR 阻害剤に感受性が高いことがわかった。

以上の結果から、スルフィンサラジンと EGFR 阻害剤の両者を併用することで、CD44v 発現の異なる細胞からなる不均一な腫瘍に対して、より効果的な治療法を実現できる可能性が示唆された。(Yoshikawa M, Asoda S et al. Cancer Res, 2013)。

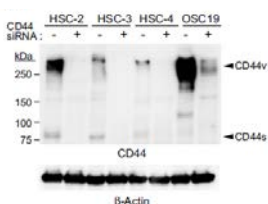


図 1 口腔癌細胞株の CD44 発現量

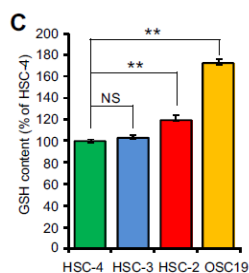


図 2 口腔癌細胞株の GSH 量の比較

## 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 Yoshikawa M, Tsuchihashi K, Ishimoto T, Yae T, Motohara T, Sugihara E, Onishi N, Masuko T, Yoshizawa K, Kawashiri S, Mukai M, Asoda S, Kawana H, Nakagawa T, Saya H, Nagano O. xCT Inhibition Depletes CD44v-Expressing Tumor Cells That Are Resistant to EGFR-Targeted Therapy in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Cancer Res, 査読有, 73(6): 2013, 1855-1866  
DOI:10.1158/0008-5472.CAN-12-3609-T

[学会発表] (計 2 件)

- ① 吉川桃子, 永野修, 蒔生田整治, 中川種昭, 河奈裕正, 佐谷秀行. 口腔癌細胞の腫瘍形成における CD44v-xCT の機能的役割. 第 31 回日本口腔腫瘍学会総会, 東京, 2013. 1. 24~25.
- ② 吉川桃子, 永野修, 土橋賢治, 蒔生田整治, 中川種昭, 佐谷秀行. xCT シスチントランスポーターの阻害は CD44 バリエント陽性扁平上皮癌細胞の生体内における拡大を抑制する. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012. 9. 19~21.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ

<http://dent-os.med.keio.ac.jp/KEIO/classroom/research/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

蒔生田 整治 (ASODA SEIJI)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号：80296706

### (2) 研究分担者

吉川 桃子 (YOSHIKAWA MOMOKO)  
慶應義塾大学・医学部・研究員 (非常勤)  
研究者番号：50570967  
(2010年4月～2011年3月参画)

### (3) 連携研究者

佐谷 秀行 (SAYA HIDEYUKI)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号：80264282