

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：3 2 6 6 5

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：2 2 K 2 1 0 7 2

研究課題名（和文）IL-1 α の制御による口腔癌の悪性化進展の新規予防法の解明研究課題名（英文）Regulation of IL-1 α for novel prevention of oral cancer progression

研究代表者

福井 怜（FUKUI, Rei）

日本大学・歯学部・助教

研究者番号：6 0 7 7 1 0 9 5

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）：口腔癌の癌微小環境における癌細胞中のIL-1 α が、癌の増殖や浸潤・転移に果たす役割を病理形態学的、分子生物学的手法を用いて検討した。本研究結果より、ヒト臨床検体および口腔癌細胞株において、IL-1 α の発現レベルに多様性が認められた。特に、癌浸潤先進部での癌細胞にIL-1 α の発現が強くみられる特異性を示した。また、癌細胞のIL-1 α の発現を抑制すると細胞の遊走能も抑えられていたことから、IL-1 α の発現と遊走能に関連があることが示された。以上のことから、口腔癌においては症例ごとにIL-1 α の発現レベルを検討することが、予後因子として重要である可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IL-1 α と癌の病態に関する報告が約40例に留まる中で、口腔癌とIL-1 α の関係についての報告はほとんど認められない。口腔癌を含む頭頸部癌において、IL-1 α の発現量が高いほど生存率が低いことが報告されている。口腔癌の臨床検体を用いた外科病理学的解析結果および癌の病態に影響を及ぼすIL-1 α の役割を追究した本研究は貴重な報告例であり、癌微小環境におけるIL-1 α が予後を予測する新規のバイオマーカーまたは新規治療の標的として有用である可能性が期待される。

研究成果の概要（英文）：The study investigated the role of IL-1 α of cancer cells in the cancer microenvironment of oral cancer in cancer growth, invasion, and metastasis. The findings showed that IL-1 α expression varied among human clinical specimens and oral cancer cell lines. The specificity of IL-1 α expression in advanced cancer invasion areas may reflect its association with the migratory potential of the cells. In conclusion, we found that it may be important to see the expression level of IL-1 α as a prognostic factor in each case.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 IL-1 α

1. 研究開始当初の背景

大腸癌や胃癌、肝癌など癌の発症には遷延する慢性炎症が密接に関係し、その予防には慢性炎症の制御が不可欠である。癌の増殖・浸潤・転移などの悪性化進展においても、癌と慢性炎症との相互作用が深く関係していることが明らかにされた (Cancer Res, 2015, 75(4):766-776)。

炎症における強力なメディエーターである Interleukin 1 alpha (IL-1 α)は、過剰な炎症免疫応答を惹起することから炎症の持続化を招き、癌の悪性化進展を助長していることが示唆されている。しかしながら、その機能については未だ十分には解明されておらず、病態との関係性についてはさらなる研究報告の蓄積が期待されている。今まで、IL-1 α は、自己免疫疾患などの炎症性疾患との関連を示した研究が主流であり、特に慢性関節リウマチにおいては IL-1 α の発現抑制による関節炎の改善と IL-1 シグナル阻害剤の有用性が認められたことから、IL-1 α を標的とした生物学的製剤の開発が進み、臨床治験が行われている。これらの報告を受けて、多くの癌における IL-1 α の役割が注目され、癌の悪性化進展に関与していることが示された (Cell, 2021, 10, 92)。しかしながら、口腔癌と IL-1 α の関係についての報告はほとんど認められない。口腔癌の治療における外科的切除は、摂食や嚥下・発音機能に大きな損害を伴い、患者の QOL の低下を招くことから、癌の進展を予防することは重要な課題である。

2. 研究の目的

口腔癌において、IL-1 α が癌の悪性化進展に及ぼす影響を解明することを目的とする。本研究では、口腔癌細胞に焦点を絞り、ヒト材料、培養細胞を用いた *in vitro*での実験系において、病理形態学的、分子生物学的に解析することで、IL-1 α の発現を抑制することで口腔癌の病態の増悪予防を攻略し、さらに口腔癌の新たな予防・治療法開発につなげる研究を目指す。

3. 研究の方法

口腔癌の病態における IL-1 α の役割を解明するため、(1)ヒト臨床検体を用いた臨床病理学的解析と(2) *in vitro*での分子生物学的解析、の2本柱を軸にそれぞれ以下のような方法で実験を遂行した。

(1)臨床病理学的解析

口腔扁平上皮癌患者における、IL-1 α 発現量と予後との相関の解析

ヒト材料における IL-1 α の発現検討および評価

臨床病理学的因子(患者の年齢・性別、癌の大きさ、癌の分化度、リンパ節転移の有無)との相関の検討

(2)分子生物学的解析

ヒト口腔扁平上皮癌細胞株の IL-1 α 発現解析

1) 内在性のタンパク質・mRNA 発現量および分泌量の比較検討

2) 免疫染色における IL-1 α の局在の検討

IL-1 α 発現抑制による効果の検討

1) siRNA による発現抑制の検討

2) 遊走能及び増殖能の比較検討

3) 癌微小環境に存在する間質細胞に影響を与える可能性のある因子の検討

4. 研究成果

(1)臨床病理学的解析

がん公共データベースの網羅的横断的解析ツール(cBioportal)を用いて、口腔扁平上皮癌患者における IL-1 α 発現の有無を Kaplan-Meier 曲線(生存曲線)を作成した結果(図1)、IL-1 α 発現量が高い患者は低い患者と比較して生存率が低い傾向にある可能性が示唆された。

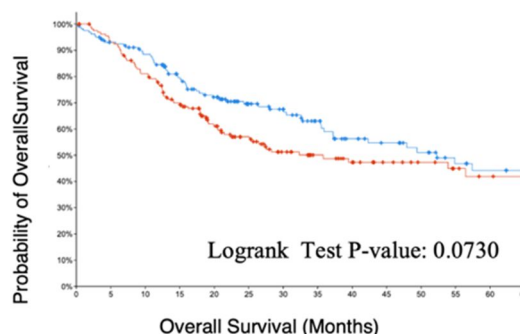


図1

本学歯学部附属歯科病院口腔外科において、口腔扁平上皮癌と診断された検体約 104 症例を対象に、IL-1 α の発現を免疫組織化学的に検討した。その結果、104 症例中の 44 症例 (42.3%)に IL-1 α の発現を認めた(図 2)。

ヒト材料における IL-1 α の発現は癌組織に陽性を示す一方で正常粘膜上皮には陰性を示していた。IL-1 α の発現強度とその分布を詳細検討した結果、同一症例内でも発現強度に部位特異性が認められた。そのため、発現強度を negative/low/moderate/high の 4 段階に定義づけ、評価・検討した(図 3)。

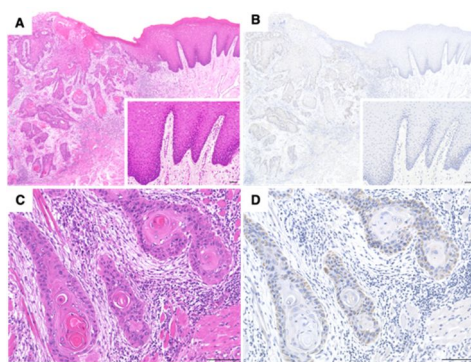


図 2

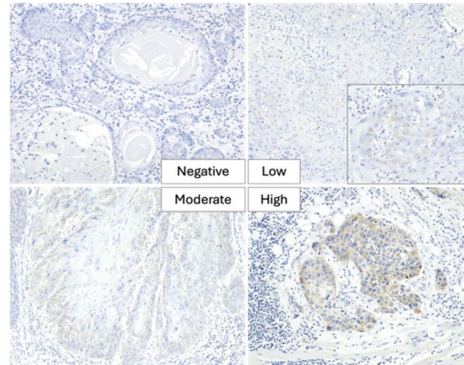


図 3

上記で low 以上を「陽性症例」として、臨床病理学的因子(患者の年齢・性別、癌の大きさ、癌の分化度、リンパ節転移の有無)との相関を χ^2 乗検定で統計学的に検討した。明らかな相関は見られないものの、分化度が低いほど陽性率が高い傾向にあることが示唆された。

(2) 分子生物学的解析

各種ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC2, HSC3, HSC4, Ca9-22, UM-SCC6) における IL-1 α 発現量を、ヒト正常皮膚線維芽細胞 (NHDF) と比較検討した。

1) 培養上清中の分泌量および Lysate 中の発現量は、いずれの細胞株においても程度の差はあるものの、口腔癌細胞株では NHDF に比較して高値を示していた。UM-SCC6 は顕著に低かった(図 4A, B)。

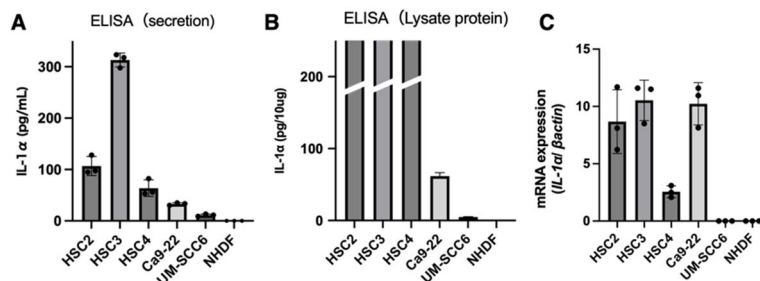


図 4

2) mRNA 発現量も程度の差はあるものの、上記と同様にいずれの口腔癌細胞株においても高い発現が認められた(図 4C)。

3) 蛍光免疫組織化学的に、HSC3 では NHDF に比して細胞質に顆粒状の顕著な発現を認めた(図 5)。

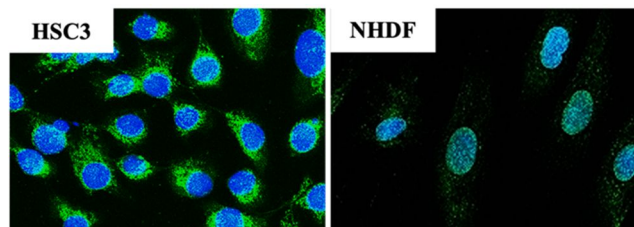


図 5

siRNA を用いた IL-1 α 発現抑制による効果の検討

1) siRNA (siRNA negative control: 以下 siCtrl, siRNA for human IL-1 α : 以下, si IL-1 α) を処理し、HSC3 における IL-1 α の内在性発現を抑制した。タンパク質発現及び mRNA 発現量、分泌量を、それぞれ Western blot 法、リアルタイム PCR 法、ELISA 法にて確認した。si IL-1 α にて IL-1 α の内在性発現を抑制した HSC3 は、siCtrl で処理した HSC3 に比較して、IL-1 α 発現量を抑制すると同時に、その分泌量も顕著に抑制していた(図 6)。

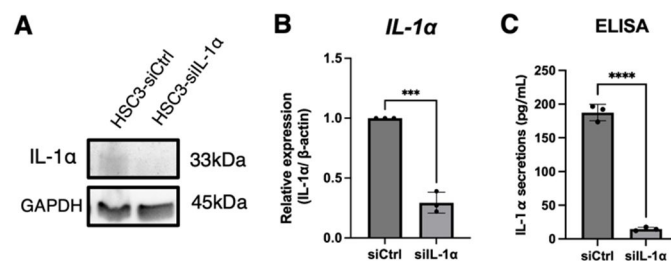


図 6

2) si IL-1 α にて IL-1 α の内在性発現を抑制した HSC3 は、コントロール群に比較して、遊走能を抑制していることが示された。一方で、増殖能には有意な差は認めなかった(図 7)。

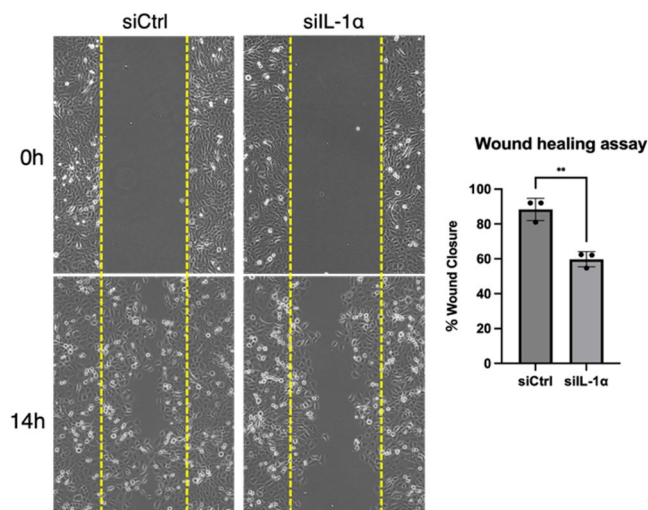


図 7

3) si IL-1 α にて IL-1 α の内在性発現を抑制した HSC3 は、他の炎症性サイトカインの発現を有意に抑制していた(図 8)。

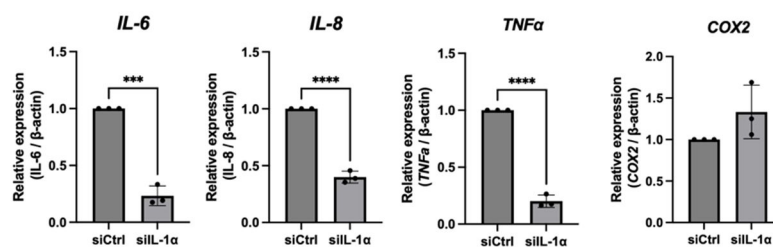


図 8

本研究の結果より、口腔癌において、ヒト材料・培養細胞ともに IL-1 α の発現には多様性が認められた。癌細胞の IL-1 α の発現を抑制すると、細胞遊走能を抑制するだけでなく、他の炎症性サイトカインの発現抑制を認められたことから、炎症性癌微小環境の緩和に寄与していた。IL-1 α の制御により、口腔癌の予防や進行抑制のための治療薬開発の一助となることが期待される。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1．発表者名 福井 怜、山本 安希子、角田 麻里子、荻澤 翔平、外木 守雄、浅野 正岳
2．発表標題 口腔扁平上皮癌におけるIL-1αの発現意義の検討
3．学会等名 第33回日本臨床口腔病理学会
4．発表年 2022年

1．発表者名 福井 怜、荻澤 翔平、山本 安希子、浅野 正岳
2．発表標題 口腔扁平上皮癌におけるIL-1αの役割
3．学会等名 第113回日本病理学会
4．発表年 2024年

〔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
---------	---------