

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10313

研究課題名(和文) 口腔扁平上皮癌における亜鉛トランスポーターの役割と機能に関する研究

研究課題名(英文) Research on the role and function of zinc transporters in oral squamous cell carcinoma

研究代表者

神野 哲平 (Jinno, Teppei)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：60755247

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：炎症性サイトカインによって制御される亜鉛トランスポーターであるが、特にZIP6はEMTに不可欠な因子であることが示されており、癌の増殖・浸潤・転移との関連について注目が集まっている分子である。実際にZIP6の発現を抑制させた乳癌細胞において、その増殖能やEMTが抑制されることも報告されていることから、これら亜鉛トランスポーターの発現に関する詳細な解析が進展することが期待されている。本研究では、OSCC細胞における亜鉛トランスポーターの発現を検索するとともに、亜鉛トランスポーターがOSCC細胞の抗癌剤抵抗性に与える影響およびIL-6シグナル伝達系との関連について検討を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまでの研究成果および臨床経験をもとに着想したもので、抗癌剤抵抗性の分子メカニズムを解明することにより、これまでにない新規治療法を確立することを最終的な目標とする。OSCC細胞における亜鉛トランスポーターの発現や機能についてはいまだ不明な点が多く、特に抗癌剤抵抗性に与える影響について検討した報告はないため、本研究は独自の視点に立った極めて独創的な研究と言える。

研究成果の概要(英文)：ZIP6 is a zinc transporter regulated by inflammatory cytokines, and ZIP6 in particular has been shown to be an essential factor for EMT, and is a molecule that is attracting attention for its relationship with cancer growth, invasion, and metastasis. ... In fact, it has been reported that breast cancer cells in which ZIP6 expression is suppressed have their proliferation ability and EMT suppressed, so it is expected that detailed analysis of the expression of these zinc transporters will progress. . In this study, we investigated the expression of zinc transporters in OSCC cells, and investigated the effects of zinc transporters on anticancer drug resistance in OSCC cells and their relationship with IL-6 signaling.

研究分野：口腔外科

キーワード：亜鉛トランスポーター ZIP6 OSCC IL-6 EMT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、OSCC 局所進展例に対しては、外科的治療のみならず化学療法や放射線療法を併用した集学的治療が行われており、比較的良好な治療成績が報告されている。しかしながら、依然として経過が不良となる症例も多く、その理由の 1 つとして抗癌剤抵抗性を獲得した癌細胞の存在が考えられている。癌細胞が抗癌剤抵抗性を獲得するメカニズムについてはいまだ不明な点が多いが、近年、様々な癌において、局所における慢性炎症が癌細胞の悪性形質獲得に深く関与していることが報告されている。それゆえ、OSCC においても局所の慢性炎症が癌細胞の抗癌剤抵抗性獲得に関与している可能性が推察される。

IL-6 は主に T 細胞、マクロファージ、線維芽細胞、単球などから産生され、炎症反応のみならず、免疫応答や造血、神経系細胞の分化誘導、腎メサンギウム細胞の増殖などにおいても重要な役割を果たしている多機能サイトカインである。最近では、前立腺癌を始めとするさまざまな癌細胞の増殖にも IL-6 が深く関与していることが報告されている。特に、腎細胞癌や肝細胞癌においては、癌細胞自身から産生された IL-6 が、autocrine 増殖因子として作用することが示されている (Cell. 2013)。

癌細胞が抗癌剤抵抗性を獲得する機序について、Yan らは、肺癌において IL-6 がアポトーシス抑制遺伝子である B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) ファミリー遺伝子である Bcl-extra large (Bcl-xL) や Myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) の発現を増強することを報告しており (Cancer Sci. 2014)、IL-6 シグナル伝達系が、アポトーシス抑制遺伝子の発現を誘導することによって、OSCC 細胞の抗癌剤抵抗性獲得にも関与している可能性が考えられる。

一方、OSCC と IL-6 との関連についても、これまでにいくつかの報告がなされている。Chen らは、組織、血液お唾液における IL-6 の発現が、OSCC の早期診断や予後の判定に有用であることを示している (Clin Cancer Res. 1999)。また、Shinriki らは、OSCC における IL-6 シグナル伝達系が、血管新生やリンパ管新生を制御することで癌の進展に関与している可能性を示している (J Pathol. 2011)。しかしながら、OSCC における IL-6 発現の意義や機能についてはいまだ不明な点が多く、特に抗癌剤抵抗性との関連について検討した報告はない。

2. 研究の目的

近年、口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma: OSCC) に対しては、手術のみならず化学療法や放射線療法を併用した集学的治療がなされており、良好な治療成績が得られている。しかしながら、局所進展例においては依然として経過が不良となる症例が多く、その理由の 1 つとして抗癌剤抵抗性を獲得した癌細胞の存在が考えられている。最近の研究では、局所における慢性炎症が、癌細胞の浸潤・転移能や抗癌剤抵抗性などの悪性形質獲得に関与していることが明らかになってきた。この悪性形質獲得にはインターロイキン 6 (interleukin-6: IL-6) などの炎症性サイトカインの関与が示唆されているが、OSCC における IL-6 の発現や機能については不明である。本研究では、OSCC における IL-6 の発現を検索するとともに、特に IL-6 が OSCC 細胞の抗癌剤抵抗性に与える影響について検討する。

3. 研究の方法

本研究ではまず OSCC 細胞株における IL-6、IL-6R および IL-6 シグナル伝達関連分子の発現について解析する。次に、IL-6 が OSCC 細胞の抗癌剤抵抗性に与える影響について検討する。

OSCC 細胞株における IL-6 および IL-6R の発現

IL-6 が OSCC 細胞の増殖に与える影響

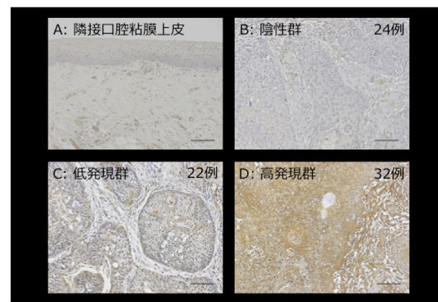
IL-6 が OSCC 細胞の抗癌剤抵抗性に与える影響

OSCC 細胞株における IL-6 シグナル伝達関連分子の発現

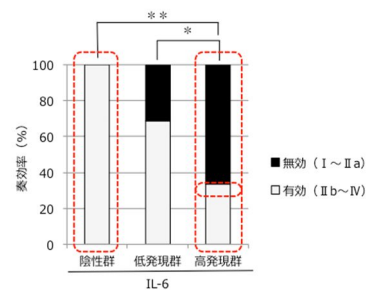
4. 研究成果

まずは、OSCC の生検および切除標本における IL-6、IL-6 receptor (IL-6R) および phosphorylation-signal transducer and activator of transcription (pSTAT3) の免疫組織化学的検討を行った (Jinno T., et al. *Oncol Rep.* 2015)。その結果、OSCC 生検組織において、IL-6 は主に癌細胞の細胞質に発現を認め、癌巣周囲の一部の細胞にも発現を認めた。IL-6 高発現群では、癌細胞の核内に pSTAT3 の発現を認めた。臨床病理学的所見との関連において、IL-6 高発現群は陰性群および低発現群に比べ、頸部リンパ節転移と遠隔転移の発生頻度が有意に高く、術前放射線化学療法による病理組織学的抗腫瘍効果が乏しかった。また、切除標本のほとんど全ての残存癌細胞に IL-6、IL-6R および pSTAT3 の発現を認めた。さらに、疾患特異的累積5年生存率は、高発現群が 68.0%、陰性群および低発現群が 90.0%であり、高発現群は陰性群および低発現群と比較して有意に低く、予後が不良であった。

OSCC生検標本におけるIL-6の発現様式



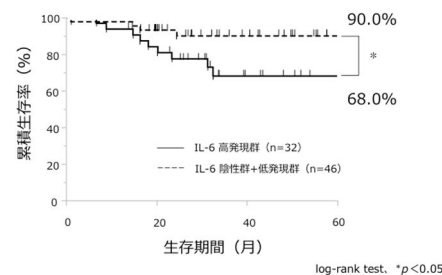
IL-6の発現と病理組織学的抗腫瘍効果との関連



χ^2 test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

次に、3種類のOSCC細胞株(HSC-2、SQUU-AおよびSQUU-B)と高転移株SQUU-Bから分離したE-cadherin高発現クローン(SQUU-B-EH)とEMTの形質を示すE-cadherin低発現クローン(SQUU-B-EL)を用いて、OSCC細胞株におけるIL-6、IL-6RおよびpSTAT3の発現とIL-6による抗癌剤抵抗性に関する検討を行った。その結果、IL-6およびIL-6Rの発現は、全てのOSCC細胞で認められ、SQUU-B-EL細胞で最も発現量が多く、HSC-2細胞で最も少なかった。また、全てのOSCC細胞において、recombinant human(rh)IL-6 protein添加による細胞増殖促進効果は認められなかった。多くのOSCC細胞において、抗癌剤の濃度が高くなるにつれて細胞生存率の低下を認めたが、IL-6の発現量が多かったSQUU-B-EL細胞では抗癌剤に対し抵抗性を示した。また、HSC-2細胞にrhIL-6 proteinを添加したところ、rhIL-6 proteinの濃度が高くなるにつれて抗癌剤による細胞生存率の低下が抑制された。さらに、抗IL-6R抗体を添加したところ、IL-6の抗癌剤抵抗性が減弱した。rhIL-6 protein添加によって、pSTAT3の発現上昇を認めた。

疾患特異的累積5年生存率



log-rank test, * $p < 0.05$

これらのことから、OSCC細胞におけるIL-6の発現が抗癌剤に対する抵抗性の獲得に関与しており、STAT3シグナルを介した伝達経路がその重要な役割を果たしていると考えられた。また、抗癌剤抵抗性の獲得にはEMTが関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 丸瀬靖之、川野真太郎、神野哲平、松原良太、後藤雄一、坂本泰基、橋口有真、大部一成、中村誠司
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるprogrammed cell death 1 シグナル関連分子の発現と機能に関する研究
3. 学会等名 第39回 日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2021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
研究分担者	川野 真太郎 (Kawano Shintaro) (00398067)	九州大学・歯学研究院・教授 (17102)	
研究分担者	和田 尚久 (Wada Naohisa) (60380466)	九州大学・大学病院・教授 (17102)	
研究分担者	松原 良太 (Matsubara Ryota) (60615798)	九州大学・歯学研究院・共同研究員 (17102)	

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