

令和元年6月19日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10796

研究課題名(和文) CD147シグナル伝達経路による頭頸部癌制御機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of head and neck cancer control mechanism by CD147 related cell signaling pathway

研究代表者

鈴木 真輔 (SUZUKI, SHINSUKE)

秋田大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：90312701

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：舌扁平上皮癌細胞および臨床試料におけるCD147発現と頸部リンパ節転移との関連性の検討から、CD147はS100A9との相互作用を介して舌癌細胞浸潤を誘導し、腫瘍の浸潤先端部癌胞巣におけるCD147の発現は、舌扁平上皮癌患者の頸部リンパ節転移の予測に役立つ可能性が指摘された。また、頭頸部癌細胞ではCD147と Cyclophilin Aの相互作用によりMEKを介するシグナル伝達経路が活性化されることが示唆された。さらにCD147が頭頸部扁平上皮癌のEMT(Epithelial-mesenchymal transition)誘導および細胞遊走や浸潤能などの腫瘍促進能に関与することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究結果は頭頸部扁平上皮癌の進展機序を、CD147を中心に解明したものであり、頭頸部扁平上皮癌の治療標的としてCD147が候補となりうることが示された。これらの結果は頭頸部扁平上皮癌の新たな治療法の開発につながり、頭頸部癌患者の生命予後を改善させる可能性を持つ。

研究成果の概要(英文)：Studies using squamous cell carcinoma of the tongue cells and clinical specimens indicated that CD147 induces tongue cancer cell invasion through its interaction with S100A9, and that expression of CD147 in the invasive tumor front may help predict cervical lymph node metastasis in patients with squamous cell carcinoma of the tongue. In addition, in the head and neck cancer cell, it was indicated that the cell signal through MEK was activated by the interaction of cyclophilin A and CD147. Furthermore, we confirmed that CD147 is involved in the induction of EMT (Epithelial-mesenchymal transition) and tumor promotion, such as cell migration and invasion, in head and neck squamous cell carcinomas.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：頭頸部癌 CD147 転移 上皮間葉移行

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍の進展には多くの現象を経る必要があるが、近年、これらを制御するシグナル伝達経路の解明が進んでいる。頭頸部癌においても VEGFR や Wnt などの各種の分子およびこれらによって誘導されるシグナル伝達経路の解明が進み、最近では EGFR を介したシグナル伝達経路を標的とした薬剤の臨床応用が進んでいる。EGFR シグナル伝達経路は頭頸部癌を含めた様々な癌腫において詳細な検討が行われ、より有効な使用方法の検討が行われてきた。この結果、抗 EGFR 治療のみでは十分な効果が得られない場合でも、STAT3、c-Src など特定のシグナル伝達因子を同時阻害することにより、より効率的な抗腫瘍効果が得られることが報告されている。これは癌進展にかかわるシグナル伝達経路には相補的な経路が存在することを意味し、癌治療に際しては主な標的となるシグナル伝達経路のみならず、これに関与する他のシグナル伝達経路や因子の解明が重要であることを示すものである。

頭頸部癌を含む固形癌の進展の最大の特徴である癌細胞の浸潤・転移には、基底膜や周囲組織である細胞外マトリックスの分解は欠くことができない。これらを分解する主役として、マトリックスメタロプロテナーゼ (matrix metalloproteinases; MMPs) が知られている。近年、この MMPs 産生誘導因子として CD147 (EMMPRIN) の存在が報告され、癌組織における MMP 産生の機序とともに、CD147 の腫瘍進展能力の解明が国内外で急がれてきた。

我々はこれまで、頭頸部癌細胞における CD147 がその支持細胞である線維芽細胞から MMP-2 の産生および活性化を誘導することを報告し、さらに頭頸部癌細胞の遊走能を促進することを報告してきた。加えて、CD147 とサイクロフィリン A (cyclophilin A) の相互作用が、頭頸部癌細胞における MMP-9 産生、増殖、薬剤耐性を誘導すること、さらに CD147 の阻害により頭頸部癌細胞浸潤が抑制されることを報告し、頭頸部癌における CD147 の機能解明を進めてきた。さらにこの CD147 の阻害は EGFR 阻害による頭頸部癌の増殖、遊走などの阻害効果を増強することを報告したが、これは CD147 と EGFR 各々により誘導されるシグナル伝達経路が腫瘍進展に関して相補的な役割を担っていることを示すものであり、CD147 が頭頸部癌制御における新たな標的となる可能性を示してきた。

しかしながら CD147 を介して誘導される腫瘍進展の機序や、臨床における意義についてはいまだ詳細な検討が行われておらず、より効率的な治療効果発現に向けさらなる検討が求められる。

## 2. 研究の目的

今回の研究ではこれまでの我々の研究成果をもとに、CD147 を介するシグナル伝達経路をはじめとした腫瘍進展機序の解明、および臨床定義を検討し、CD147 を標的とするより効率的な頭頸部癌治療の開発を目的とする。

## 3. 研究の方法

複数のヒト頭頸部癌細胞株を用い、CD147 を介した腫瘍浸潤能に関する検討を行う。また、CD147 阻害がもたらす抗腫瘍効果の増強効果について検討する。また臨床検体における CD147 の発現の検討を行い、CD147 が頭頸部癌の予後規定因子としての可能性を検討する。

## 4. 研究成果

舌 T1-T2 扁平上皮癌 (SCC) の症例における予後不良因子である頸部リンパ節転移と CD147 の発現についての検討を行った。本研究では、*in vitro* での舌の SCC の腫瘍形成における CD147 の役割、ならびに舌 SCC の臨床試料における CD147 発現と頸部リンパ節転移との関連性を評価した。まず、舌 SCC 細胞株を用い、腫瘍形成と CD147 との関連性を評価した。さらに、臨床病期 T1-T2 舌 SCC を有する患者を病理組織学的分析で評価した。病理組織学的所見に関連する頸部リンパ節転移のリスクを調査するために、単変量および多変量解析を行った。この結果、細胞浸潤は、S100A9 による刺激により促進された。また、この現象は CD147 に対する function-blocking antibody によって抑制された。さらに臨床検体を用いた検討の結果、腫瘍の浸潤先端部における癌胞巣での CD147 発現が、転移の独立した危険因子となることを同定した。これらの結果から、CD147 は S100A9 との相互作用を介して舌癌細胞浸潤を誘導すると結論された。このことから、腫瘍の浸潤先端部癌胞巣における CD147 の発現は、臨床的に頸部転移を伴わない T1-T2 舌 SCC 患者の頸部リンパ節転移の予測に役立つ可能性が指摘された。

頭頸部癌細胞株を用いたシグナル伝達因子の検討では、CD147 の刺激因子である Cyclophilin A を用いて CD147 を刺激、あるいは siRNA 技術を用いて CD147 の機能を抑制する条件下で主要な細胞内シグナル伝達因子のリン酸化を測定した。この結果、Cyclophilin A による刺激により MEK のリン酸化が促進され、また siRNA による CD147 knock down によって抑制された。この結果から CD147 により MEK を介するシグナル伝達経路が活性化されることが示唆された。

また近年、固形がんにおける EMT (Epithelial-mesenchymal transition: 上皮間葉移行) の重要性が注目され、頭頸部領域でもその重要性が着目されている。しかしこの EMT に対する CD147 の関与は不明であった。この検討のため、我々は EMT の誘導因子である TGF- $\beta$  により頭頸部扁平上皮癌細胞株が EMT を誘導されることを確認し、さらに頭頸部扁平上皮癌細胞株の CD147 を knock down し同様の検討を行った。この結果、CD147 の knock down により TGF- $\beta$  による EMT 誘導は抑制された。さらに、EMT 誘導が抑制された際、細胞遊走能および浸潤能をも抑制されることを確認した。これは、CD147 が頭頸部扁平上皮癌の EMT 誘導および細胞遊走や浸潤能などの腫瘍促進能に関与することを示唆するものである。この結果から、頭頸部扁平上皮癌の新たな治療標的として、CD147 が候補となりうることを示された。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

**Suzuki S**, Toyoma S, Tsuji T, Kawasaki Y, Yamada T.

CD147 mediates transforming growth factor- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition and cell invasion in squamous cell carcinoma of the tongue.

Exp Ther Med. 2019 Apr;17(4):2855-2860. 【査読あり】

**Suzuki S**, Honda K, Nanjo H, Iikawa N, Tsuji T, Kawasaki Y, Yamazaki K, Sato T, Saito H, Shiina K, Ishikawa K.

CD147 expression correlates with lymph node metastasis in T1-T2 squamous cell carcinoma of the tongue.

Oncol Lett. 2017 Oct;14(4):4670-4676. 【査読あり】

〔学会発表〕(計 6 件)

AACR Annual Meeting 2018

CD147/EMMPRIN mediates epithelial-mesenchymal transition of head and neck squamous cell carcinoma

Shinsuke Suzuki, Satoshi Toyoma, Takechiyo Yamada

第 41 回 頭頸部癌学会 平成 29 年 6 月 京都

頭頸部扁平上皮癌増殖における CXCR-4 の役割

登米 慧(秋田大学 医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科), 鈴木 真輔, 山田 武千代

第 41 回 頭頸部癌学会 平成 29 年 6 月 京都

線維芽細胞は放射線照射により頭頸部扁平上皮癌の遊走促進能を亢進させる

鈴木真輔、登米 慧、石川和夫

第 39 回 頭頸部癌学会 平成 28 年 6 月 埼玉

頭頸部癌の上皮間葉移行における CD147/EMMPRIN の関与

鈴木真輔、登米 慧、辻 正博、石川和夫

第 117 回 日本耳鼻咽喉科学会総会 平成 28 年 5 月 名古屋

下咽頭癌における CD147/EMMPRIN 発現と予後の検討

鈴木真輔、本田耕平、山崎一春、川寄洋平、辻正博、飯川延子、佐藤輝幸、石川和夫

第 38 回 頭頸部癌学会 平成 27 年 6 月 神戸

Analysis of signaling pathways induced by CD147/EMMPIN in HNSCC

Shinsuke Suzuki, Kazuo Ishikawa

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6．研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。