

令和 3 年 5 月 5 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K17302

研究課題名（和文）口腔癌間質における線維芽細胞由来G-CSFによる癌進展メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of cancer progression by fibroblast-derived G-CSF in oral cancer stroma

研究代表者

原田 佳和 (HARADA, YOSHIKAZU)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：70744100

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：口腔扁平上皮癌(OSCC)の癌関連線維芽細胞(CAF)が産生するGranulocyte Colony Stimulating Factor(G-CSF)はOSCCの増殖能・浸潤能に影響し、悪性度が高まる傾向が見られた。さらにこの傾向は、OSCCにおけるG-CSF-Receptor(GCSF-R)の発現に依存していた。以上より、G-CSFRの発現の評価はOSCCの悪性度の指標となり、さらにはG-CSFRをターゲットとした治療も期待できると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌患者の予後は腫瘍の進展と関連している。今日までの口腔癌関連研究では、癌実質の変化に関する研究が大部分であったが、癌実質と癌間質との関係を検討した研究はわずかであった。本研究ではCAFが産生するG-CSFの役割に注目した。その結果、CAFが産生するG-CSFはOSCCの増殖能・浸潤能に影響し、悪性度が高まる傾向が見られた。さらにこの傾向は、OSCCにおけるGCSF-Rの発現に依存していた。本研究結果が、今後必要とされる実質と間質を一体として捉えた癌治療に発展に寄与すると考える。

研究成果の概要（英文）：Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF) produced by cancer-associated fibroblasts (CAFs) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) affected the proliferative and invasive potential of OSCC and tended to increase malignancy. Furthermore, this trend was dependent on the expression of G-CSF-Receptor (GCSF-R) in OSCC. In conclusion, evaluation of G-CSFR expression can be an indicator of the malignancy of OSCC, and treatment targeting G-CSFR can be expected.

研究分野：口腔癌

キーワード：OSCC CAF G-CSF G-CSFR

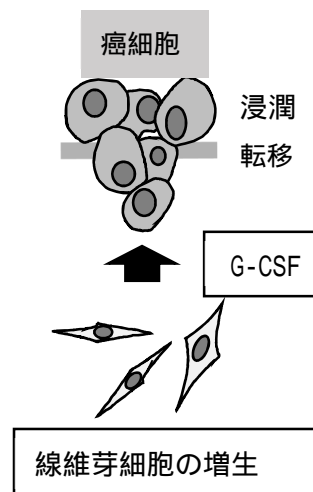
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌実質を取り巻く間質の主要構成細胞である線維芽細胞 (Cancer associated fibroblast: CAF)

の癌浸潤部における増生 (Desmoplastic reaction: DR) は腫瘍の進展に深く関わっている (Kalluri et al. Nat Rev Cancer. 2006)。近年では、食道扁平上皮癌における DR の出現がその悪性度に関与していると報告され (Saito et al. Oncol Rep 2014)、口腔癌においても、その組織型の約 90% が扁平上皮癌であるため、CAF の増生と予後悪化との関連性が推察される。一方、Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF) は線維芽細胞から分泌されることがよく知られているサイトカインである。大腸癌では CAF での G-CSF 発現が癌の増殖能・浸潤能を増大させるとの報告がある (Morris et al. Br J Cancer 2014)。

以上のように、口腔癌において、CAF が産生する G-CSF が腫瘍の進展に関与していると考えられるが、これまでその関連に関しては報告されておらず、本研究を着想するに至った。



2. 研究の目的

腫瘍細胞に対する癌間質の機能に関しては、その腫瘍進展への関与が明らかになってきており、非常に注目されている研究分野である。癌間質は、癌細胞の増殖・生存・浸潤・転移に関与し、多面的に腫瘍進展を促進させるので、癌間質を正常化させることができれば、間接的に腫瘍進展を抑制でき、癌細胞を標的とした既存の治療方法との併用に応用する等、新たな臨床応用に発展しうる。癌間質の主要構成細胞である線維芽細胞が産生する G-CSF による口腔癌進展への関与を証明し、G-CSF を標的とした癌悪性度の新規マーカー、および新規治療薬開発などの臨床応用の基盤とすることが本研究の目的である。

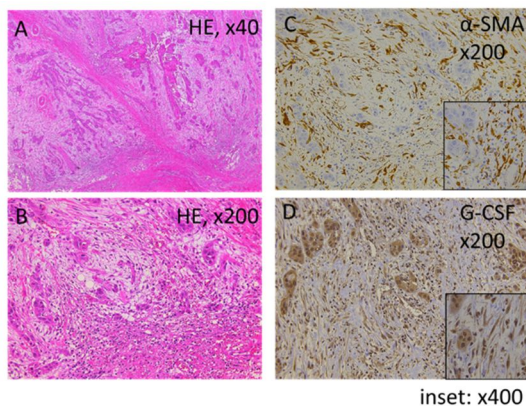
3. 研究の方法

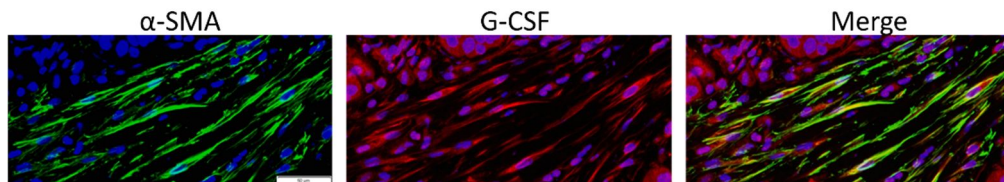
癌間質の線維芽細胞の G-CSF 発現および腫瘍細胞における G-CSF Receptor (G-CSFR) 発現と、臨床病理学的因子との関連を解析するため、舌扁平上皮癌 (SCC) の切除組織を 47 例使用し免疫染色を行った。染色性は浸潤先端部で評価した。CAF のマーカーである α -SMA 発現を間質の線維芽細胞で確認し、同部で G-CSF 陽性線維芽細胞数を計測、および腫瘍細胞の G-CSFR の染色強度を評価して、その結果と対象者の臨床病理学的因子との関連を統計解析した。また、G-CSFR 発現を調整するシグナルを検証するため、G-CSFR プロモーター領域に結合部位がある STAT3 に着目し、腫瘍細胞における G-CSFR 発現と STAT3 発現の関連についても解析した。

さらに、これらの現象のメカニズムを明らかにする目的で、口腔扁平上皮癌細胞株を用いた実験を行った。各細胞株の G-CSFR の発現をウェスタンブロッティングで検出した後、si-RNA によって G-CSFR の発現を knock down して、細胞の増殖能や浸潤能に影響があるかを観察した。また、CAF から分泌される G-CSF の影響を検討するために、寒天培地を利用した三次元培養によって癌細胞と線維芽細胞を共培養して、観察・解析した。

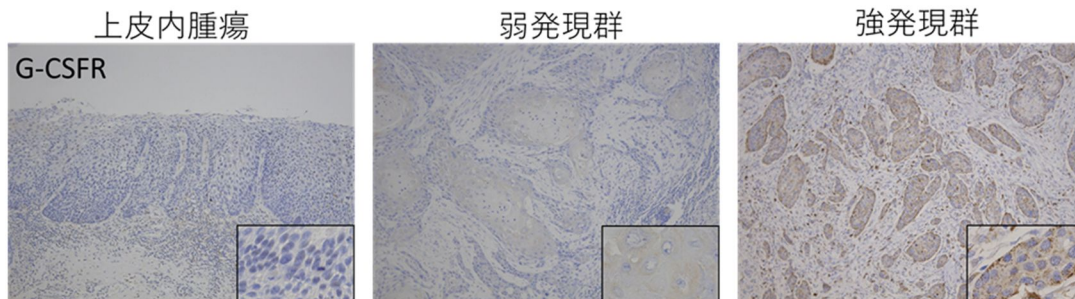
4. 研究成果

腫瘍の浸潤先端部における G-CSF 陽性 CAF の細胞数は、腫瘍の深達度が深くなるにつれて有意に多かった (Spearman の順位相関係数 = 0.069, p 値 < 0.001)。

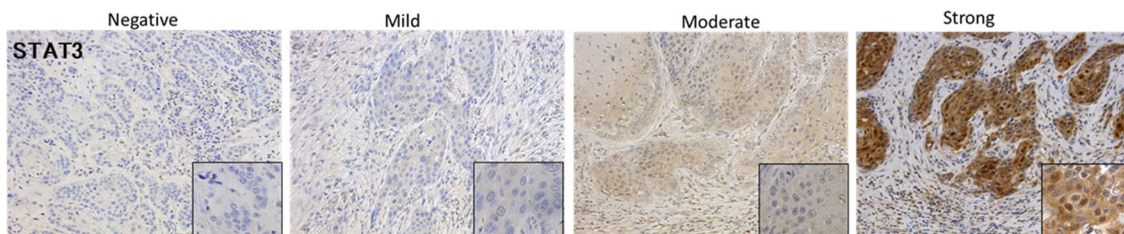




G-CSFR の腫瘍実質での発現強度は、上皮内腫瘍では弱く、浸潤部では強い傾向がみられた。



「腫瘍実質で G-CSFR が強発現し、かつ G-CSF 陽性 CAF が多い」群は、その他の群に比べて有意に、内向性(p 値= 0.03)で、腫瘍径(p 値= 0.04)と深達度(p 値= 0.001)が大きく・リンパ管浸潤が多かった(p 値< 0.001)。また、腫瘍細胞での STAT3 発現が強い程、G-CSFR が有意に強発現していた(p 値= 0.039)。



さらに、口腔癌細胞株の G-CSFR 発現を抑制することで、癌細胞の増殖能および浸潤能が低下する傾向が見られた。

以上の結果から、口腔 SCC において CAF が産生する G-CSF が腫瘍細胞の G-CSFR に結合することによって腫瘍細胞の増殖能および浸潤能を活性化しており、その影響度は腫瘍細胞の G-CSFR 発現に依存していた。CAF の G-CSF 産生、および腫瘍細胞の G-CSFR 発現は舌 SCC の予後に関連していることから悪性度の指標となるばかりでなく、それらを抑制することによって腫瘍の進展を抑制し得ることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 原田佳和、宮脇昭彦、平島惣一、秋森俊行、志渡澤和佳、大矢亮一
2. 発表標題 舌扁平上皮癌におけるG-CSFR発現と臨床病理学的因子との関連
3. 学会等名 第64回（公社）日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原田佳和、宮脇昭彦、平島惣一、秋森俊行、志渡澤和佳、大矢亮一
2. 発表標題 舌扁平上皮癌間質における線維芽細胞由来 G-CSF と臨床病理学的因子との関連
3. 学会等名 第37回 日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2019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
---------	---------