

令和 4 年 5 月 21 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09311

研究課題名(和文) CD98hc+/CD44v9+は新たな癌幹細胞・放射線感受性マーカーである

研究課題名(英文) CD98hc+/CD44v9+ is a new cancer stem cell and radiosensitivity marker

研究代表者

川崎 洋平 (Kawasaki, Yohei)

秋田大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00644072

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：CD98は重鎖と軽鎖からなる膜タンパクである。CD98重鎖の過剰発現は、様々な癌で予後不良因子であることがわかっている。我々は、頭頸部扁平上皮癌においてCD98重鎖が癌幹細胞のマーカーであることを報告した。一方でCD98軽鎖はアミノ酸トランスポーターであり、癌細胞にはLAT1が特異的に発現している事が解明されはじめている。頭頸部扁平上皮癌ではその働きは明らかでない。我々はLAT1陽性細胞が悪性度に関与し、治療抵抗性に寄与している事を明らかにした。そして、CD98軽鎖を阻害することによって癌幹細胞を死滅できる可能性を示唆した。癌幹細胞マーカーであるCD44v9との関連を調べていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部扁平上皮癌のCD98軽鎖であるLAT1は悪性度に関与し、臨床検体からもLAT1の発現が高い群は予後不良であることが明らかとなった。特に、放射線化学療法に対しては顕著に抵抗性があることがわかった。LAT1の阻害薬JPH203によって、頭頸部扁平上皮癌の通常株や放射線耐性株の働きが大きく抑えられた事は大きな発見である。今後、LAT1の発現が高い頭頸部扁平上皮癌や再発症例に対して、LAT1を阻害するという治療の開発につながると思われる。元々予後不良である頭頸部扁平上皮癌の予後改善を目指せる新規治療法につながるとして、大きな学術的、社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：CD98 is a membrane protein composed of heavy and light chains.

Overexpression of CD98 heavy chain has been found to be a poor prognostic factor in a variety of cancers. We reported that CD98 heavy chain is a marker of cancer stem cells in head and neck of squamous cell carcinoma. On the other hand, CD98 light chain is an amino acid transporter, and it is beginning to be elucidated that LAT1 is specifically expressed in cancer cells. Its function is not clear in head and neck of squamous cell carcinoma. We have shown that LAT1-positive cells are involved in malignancy and contribute to therapeutic resistance. And the present study suggests that inhibiting CD98 light chains may be able to kill cancer stem cells. We will investigate the association with CD44v9, a cancer stem cell marker.

研究分野：頭頸部扁平上皮癌

キーワード：LAT1 CD98 放射線抵抗性 頭頸部扁平上皮癌

1. 研究開始当初の背景

CD98 はジスルフィド結合した重鎖と軽鎖のヘテロ二量体から構成される細胞表面抗原である。重鎖 (hc) はインテグリン 鎖と結合しておりインテグリンシグナルの増幅において重要である。一方、軽鎖 (lc) はアミノ酸トランスポーターとして機能する。重鎖および軽鎖の機能により CD98 は細胞の増殖、生存、遊走、接着などを制御している。我々は以前の研究で、CD98hc が頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) における癌幹細胞 (CSC) マーカーの 1 つである事を国際誌に発表した。以前より CD44 は HNSCC における CSC マーカーと言われてきたが、その variant が重要であることがわかってきている。中でも CD44v9 は、CSC マーカーとして利用可能ではないかとの事を国際誌に発表した。その事から、CD98hc と CD44v9 のダブルポジティブな細胞はより癌幹細胞に近づけるのではないかと考えた。CD98 も解明が進んできており近年、悪性腫瘍において CD98lc は LAT1 というアミノ酸トランスポーターである事がわかり、治療のターゲットになると期待されている。しかし、HNSCC において LAT1 を研究したものは少なく、まずはその働きを明らかにする必要があると考えた。

2. 研究の目的

HNSCC における CD98lc である LAT1 陽性細胞の働きを明らかにする。また、LAT1 阻害剤が HNSCC に対して有効か否かを検討する。LAT1 を阻害する事で CD98 の働きを抑制できれば癌幹細胞の死滅に大きな進歩となる。

3. 研究の方法

HNSCC 細胞株、Sa3 (歯肉癌), HSC2 (口腔癌), HSC4 (舌癌) の 3 種類を用いた。抗 LAT1 抗体で染色してフローサイトメトリーで LAT1 の発現を調べた。更に LAT1 陽性細胞と陰性細胞に分取し、Sphere 形成能、浸潤能、遊走能を検討した。3 種類の細胞に、合計 60Gy を外照射し、同様の検討を行った。LAT1 阻害薬である JPH203 を培養液に添加し、Spheroid 形成能、浸潤能、遊走能の抑制を検討した。

当施設で生検の結果、HNSCC と診断された検体を、LAT1 で免疫染色し、5 年生存率と無病生存期間の検討を行った。

4. 研究成果

LAT1 の陽性率であるが、親株では 10~20%であった。それに対して放射線を照射して生存できた細胞では約 80%が陽性であった。放射線耐性となると、LAT1 が発現してくるのか、LAT1 が発現している細胞が生き残ってきたのかは今後の解明が必要である。しかし、治療抵抗性に関与している事が示唆された(図 1)。

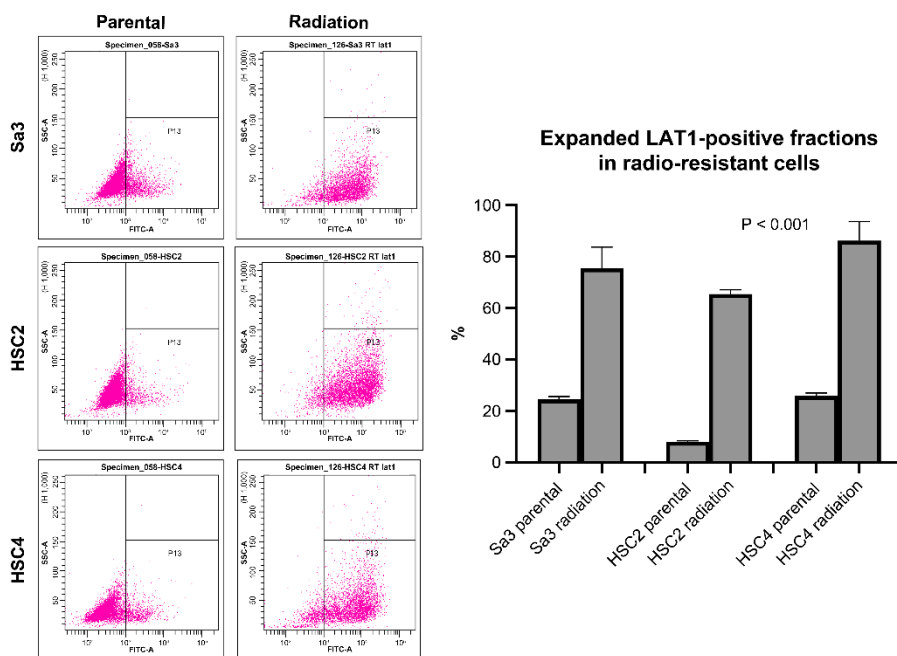


図 1

LAT1 陽性細胞と LAT1 陰性細胞に分離し、Spheroid 形成能と浸潤能の検討を行った。親株 (図 2a)、放射線耐性株 (図 2b) とともに LAT1 陽性細胞は Spheroid 形成能と浸潤能が亢進していた。

LAT1-positive cells have enhanced spheroid formation and invasion ability.

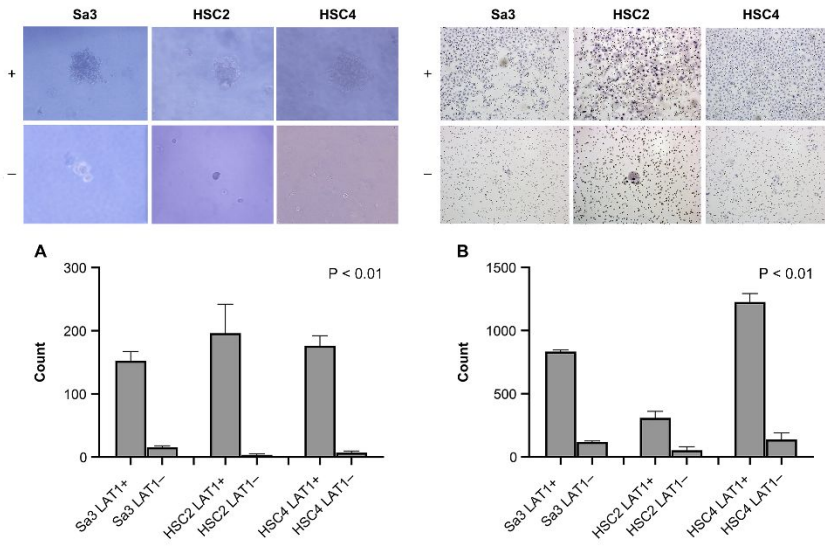


図 2a

Enhanced spheroid formation and invasiveness in LAT1-positive radio-resistant cells

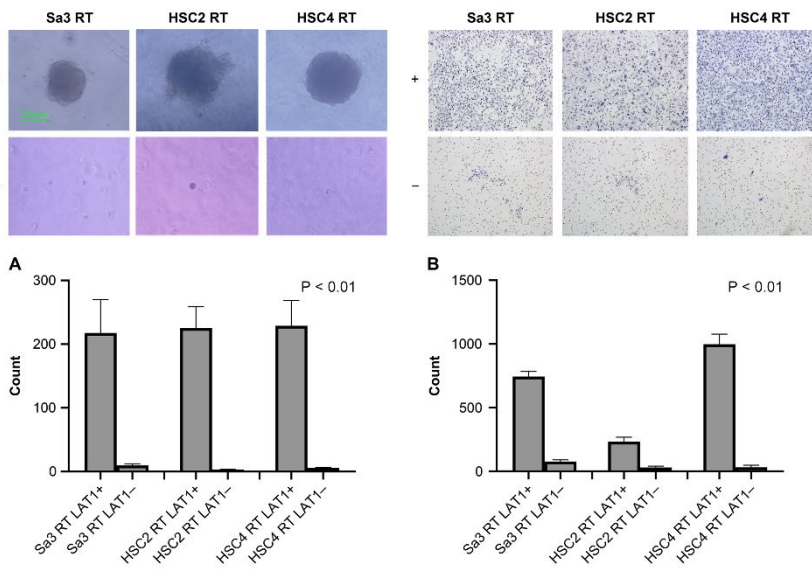


図 2b

LAT1 阻害薬である JPH203 の効果を調べた。培養液に 100 μ l の JPH203 を添加したところ、LAT1 陽性細胞の陽性率は下がる事が確認された (図 3 A: 通常株、B: 放射線耐性株)。

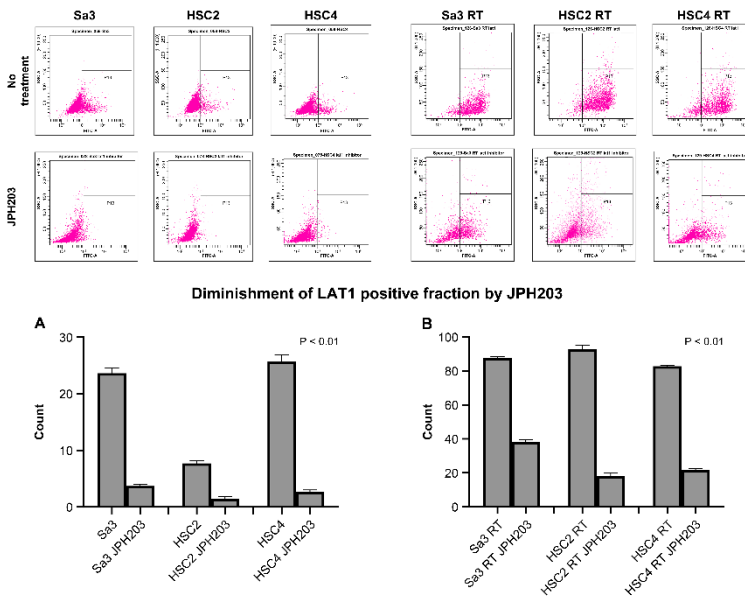


図 3

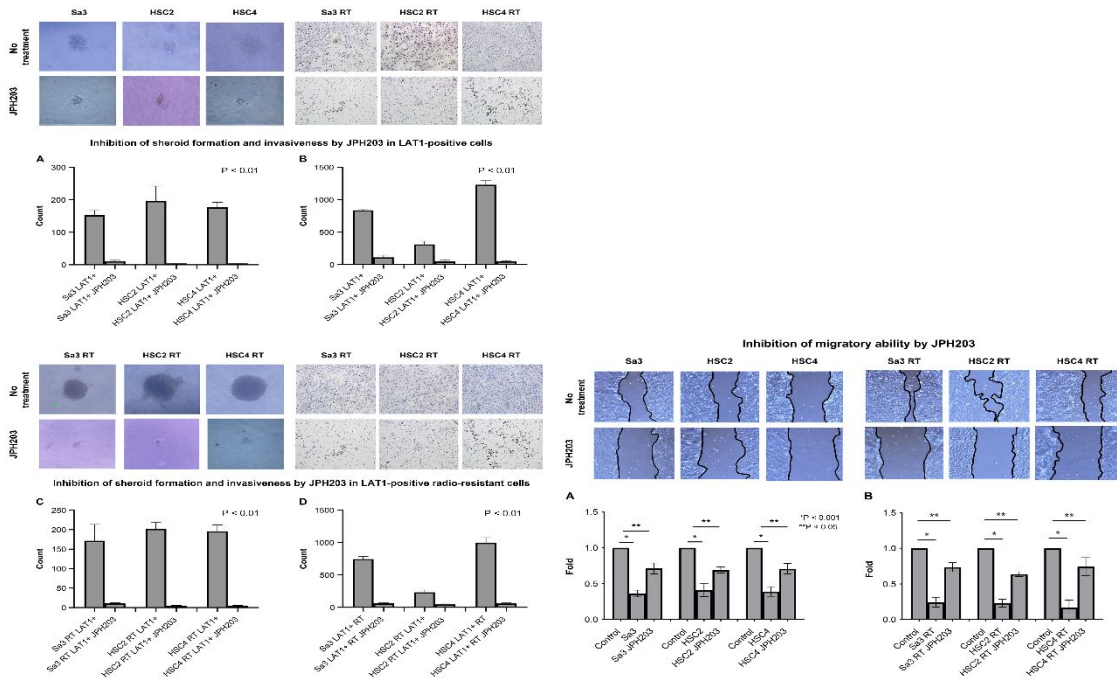


図 4

また JPH203 の投与により、Spheroid 形成能と浸潤能、遊走能とも大きく抑えることができた (図 4 左上:通常株への JPH203 の効果、左下:放射線耐性株への JPH203 の効果、右下:通常株と放射線耐性株の遊走能の JPH203 での抑制)。JPH203 は HNSCC にも有効であり、放射線抵抗性となった細胞株にも有効であったことから、放射線照射後の再発癌でも応用可能となる事が示唆された。

実際の臨床検体を LAT1 で免疫染色し、病理医に高発現群と低発現群に分類してもらい、5 年生存率 と無病生存率 (図 5) の検討を行った。

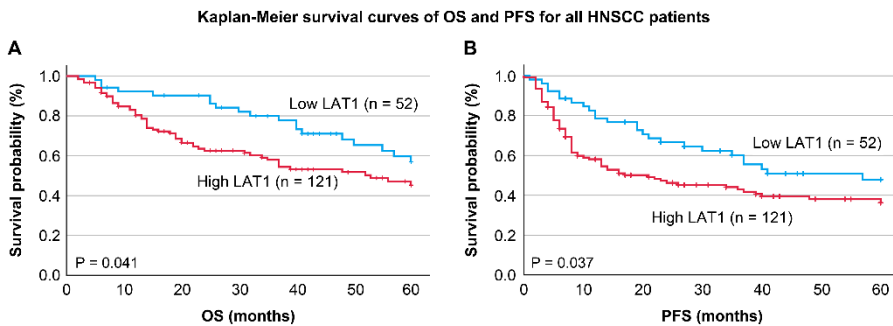


図 5

高発現群は非常に予後が悪く、多変量解析によっても LAT1 は独立した予後因子であった。更に、照射群でも有意な差が出ており、LAT1 は放射線抵抗性に関与していることが考えられた(図 6)。

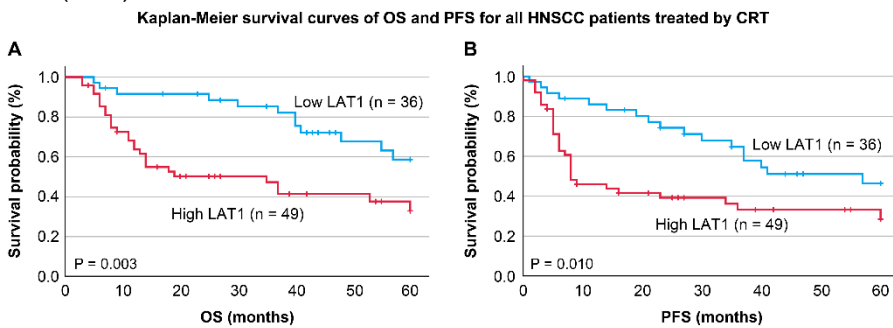


図 6

以上より、LAT1 陽性細胞は無血清半流動培地で Sphere 形成能を維持しており、CSC の性質を持っている可能性がある。更に浸潤、遊走能とも亢進しており、悪性度に大きく寄与している。この事は実際の臨床データでも明らかである。しかし、JPH203 は LAT1 の働きを大きく抑制する事ができ、新鮮例、再発例ともに極めて有効な治療法となる事が期待される。(論文投稿中)

今後は JPH203 の投与により CSC マーカーである CD44v9 との連動も検討していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Yohei Kawasaki, Yasufumi Omori, Shinsuke Suzuki, Takechiyo Yamada	4. 巻 -
2. 論文標題 CD98hc as a marker of radiotherapy-resistant cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archives of Medical Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5114/aoms.2020.92872	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yohei Kawasaki, Yasufumi Omori, Hidekazu Saito, Shinsuke Suzuki, Takechiyo Yamada	4. 巻 15(3)
2. 論文標題 The investigation of salvage endoscopic laryngopharyngeal surgery after chemoradiotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Videosurgery and Other Miniinvasive Techniques	6. 最初と最後の頁 511-518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5114/wiitm.2020.94518	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Satoshi Toyoma, Shisuke Suzuki, Yohei Kawasaki, Takechiyo Yamada	4. 巻 20(2)
2. 論文標題 SDF/CXCR4 induces cell invasion through CD147 in squamous cell carcinoma of the larynx.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology letter	6. 最初と最後の頁 1817-1823
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.11744	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yohei Kawasaki, Yasufumi Omori, Shinsuke Suzuki, Takechiyo Yamada	4. 巻 -
2. 論文標題 CD98hc as a marker of radiotherapy-resistant cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Archives of Medical Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5114/aoms.2020.92872	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yohei Kawasaki, Yasufumi Omori, Hidekazu Saito, Shinsuke Suzuki, Takechiyo Yamada	4. 巻 -
2. 論文標題 The investigation of salvage endoscopic laryngopharyngeal surgery after chemoradiotherapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Videosurgery and Other Miniinvasive Techniques	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5114/wiitm.2020.94518	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yohei Kawasaki, Yasufumi Omori, Hidekazu Saito, Shinsuke Suzuki, Tamotsu Matsuhashi, Takechiyo Yamada	4. 巻 13 (3)
2. 論文標題 An investigation on endoscopic laryngopharyngeal surgery and related outcomes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Videosurgery and Other Miniinvasive Techniques	6. 最初と最後の頁 394-400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5114/wiitm.2018.76956	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki S, Toyoma S, Tsuji T, Kawasaki Y, Yamada T.	4. 巻 17(4)
2. 論文標題 CD147 mediates transforming growth factor- 1-induced epithelial-mesenchymal transition and cell invasion in squamous cell carcinoma of the tongue.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Exp Ther Med	6. 最初と最後の頁 2855-2860
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/etm.2019.7230	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada T, Miyabe Y, Ueki S, Fujieda S, Tokunaga T, Sakashita M, Kato Y, Ninomiya T, Kawasaki Y, Suzuki S, Saito H.	4. 巻 4;10:74
2. 論文標題 Eotaxin-3 as a Plasma Biomarker for Mucosal Eosinophil Infiltration in Chronic Rhinosinusitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Immunol	6. 最初と最後の頁 /
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.00074. eCollection 2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iikawa N, Yamamoto Y, Kawasaki Y, Nishijima-Matsunobu A, Suzuki M, Yamada T, Omori Y	4. 巻 19(7)
2. 論文標題 Intrinsic Oncogenic Function of Intracellular Connexin26 Protein in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 /
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19072134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yohei Kawasaki , Yasufumi Omori	4. 巻 5(3)
2. 論文標題 CD44v9 and CD98hc is the marker of cancer stem cells in HNSCC	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Integr Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 1-1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15761/ICST.1000279	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 川崎洋平, 大森泰文
2. 発表標題 頭頸部扁平上皮癌において、CD98hcは癌幹細胞マーカーであり、LAT1阻害薬は新規治療法である。
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川崎洋平, 大森泰文
2. 発表標題 LAT1は頭頸部扁平上皮癌の放射線耐性患者に対する新たな治療ターゲットである
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yohei Kawasaki, Yasufumi Omori
2. 発表標題 CD98hc is a candidate of cancer stem cell marker in HNSCC
3. 学会等名 2nd International conference on STEM CELLS AND REGENERATIVE MEDICINE (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yohei Kawasaki
2. 発表標題 Minimal invasive transoral endoscopic surgeries for oro-hypopharyngeal cancer in Japan
3. 学会等名 4th International multidisciplinary medical congress in albania (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川崎洋平、大森泰文、山田武千代
2. 発表標題 頭頸部扁平上皮癌におけるCD98hc陽性細胞は癌幹細胞の性質をもつ
3. 学会等名 第 63 回日本耳鼻咽喉科学会東北地方部会連合学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川崎 洋平, 登米 慧, 齋藤 秀和, 山田 武千代
2. 発表標題 舌に迷入した魚骨の摘出に難渋した1例
3. 学会等名 第120回 日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川崎洋平
2. 発表標題 CD98hcは放射線感受性のマーカーであり、癌幹細胞の性質をもつ
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川崎洋平
2. 発表標題 頭頸部扁平上癌におけるCD98陽性細胞は放射線抵抗性のマーカーである
3. 学会等名 第28回日本フローサイトメトリー学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yohei Kawasaki
2. 発表標題 Minimal invasive transoral endoscopic surgeries for oro-hypopharyngeal cancer in Japan
3. 学会等名 4th International multidisciplinary medical congress in albania (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yohei Kawasaki
2. 発表標題 CD98hc is a candidate of cancer stem cell markers in HNSCC
3. 学会等名 2nd International conference on stem cells and regenerative medicie (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川崎洋平
2. 発表標題 甲状腺乳頭癌術後多発転移に対して 甲状腺乳頭癌術後多発転移に対してレンパチニブで長期間外来経過観察を行っている1例
3. 学会等名 第3回甲状腺治療検討会（招待講演）
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