

令和 3 年 5 月 10 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16766

研究課題名（和文）難治子宮頸癌におけるストレス顆粒に基づくメタジェニックストレス誘導EMTの新展開

研究課題名（英文）New elucidation of the mechanisms of stress-induced EMT based on the stress granule in refractory cervical cancer

研究代表者

内海 史（Utsumi, Fumi）

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：10749261

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）：子宮頸癌細胞株および抗癌剤耐性細胞株を用いて抗癌剤添加によるストレス顆粒（SG）形成、UBAP2L発現を評価し抗癌剤暴露により抵抗性を獲得した子宮頸癌細胞では、抗癌剤によるストレスへの抵抗性が生じている可能性を示した。また手術検体を利用しSG形成を調整するとされるUBAP2Lの発現により実際患者予後が悪くなることを明らかにした。放射線照射に伴い上皮間葉転換を認め放射線照射で子宮頸癌細胞の悪性化が一部促進されることを示し、子宮頸癌の手術検体から腫瘍組織を抽出し抗癌剤によるアポトーシス誘導を評価し腫瘍の抗癌剤耐性を評価する実験系を作成し、これらを用い更なる子宮頸癌の治療抵抗性獲得機構を追求する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行子宮頸癌に対する標準治療として同時化学放射線療法（CCRT）が確立されている。しかしCCRTは局所腫瘍を制御する能力は優れているが、遠隔転移には効果が限定的である。またCCRTあるいは放射線治療後の照射野内の再発例は化学療法の奏効率は低く、極めて予後不良とされている。癌は、低酸素、酸化ストレス、低栄養、そして曝露される抗癌剤や放射線治療のストレス下で生存する癌細胞とストレス顆粒（SG）との関わりが注目されており、抗癌剤耐性を伴う種の癌ではSG形成が過剰に形成され、細胞死が起きにくくなることが指摘されている。このメカニズムを明らかにすることで難治性子宮頸癌が癌の治療成績向上の一助となる。

研究成果の概要（英文）：It is indicated that UBAP2L modulates stress granule (SG) assembly. The in vitro experiment revealed that knockdown of UBAP2L remarkably inhibited cell proliferation. Using cervical cancer cell lines and chemo-resistant cell lines, we evaluated the SG assembly by the anticancer agent addition and UBAP2L expression and showed the possibility that resistance to the stress by the anticancer agent occurred in the cells which acquired resistance by anticancer agent exposure. We also elucidated that the overall survival in patients with low UBAP2L expression was longer than that of those with high UBAP2L expression. With radiation exposure, malignant transformation of the cervical cancer cell was promoted by epithelial-mesenchymal transition. Using tumor tissue from operation specimens of cervical cancer patients, we developed an experimental system to evaluate chemo-resistance of the patients' tumor. This helps us to elucidate the mechanisms of tumor-acquisition of chemo-resistance.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：難治性子宮頸癌 ストレス顆粒 UBAP2L EMT

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

- (1). 進行子宮頸癌に対する標準治療として同時化学放射線療法（CCRT）が放射線単独治療に比べて予後を改善するエビデンスは高く、揺るぎない治療となっている。しかしながら、CCRTは局所腫瘍を制御する能力は優れているが、遠隔転移には効果が限定的である。また CCRTあるいは放射線治療後の照射野内の再発例は化学療法の奏効率は低く、極めて予後不良とされている。実際に化学療法の継続中に突然の多発転移を認めることがある。また、放射線治療によって照射された腫瘍が縮小したものの、引き続き二次的な転移が誘導されるのはよく知られた事実である。癌細胞は抗癌剤や放射線などにさらされると、大部分はアポトーシスを生じ死滅したとしても、その一部は上皮間葉転換（Epithelial-Mesenchymal Transition: EMT）を生じることによってよりストレスのない組織環境へエスケープしていく構図が予想される。
- (2). 一方、Stress granule（SG：細胞内ストレス顆粒）は特定のストレス（熱刺激、低酸素、低栄養、ヒ素、抗癌剤）により形成される細胞膜を持たない細胞質構造体である。翻訳開始因子 eIF2 $\alpha$  のリン酸化により翻訳が停止しリボソームが結合していない mRNA が蓄積し、そこに RNA 結合タンパク質が集まり凝集することにより SG は形成される。SG は mRNA を封入しストレスから保護したり、損傷した mRNA を Processing body（PB）という RNA 分解機構を担う構造体に渡し分解させたりすることにより、細胞をストレスに適応させ生存方向へ働かせる重要な役割があることが知られている。癌は、低酸素、酸化ストレス、低栄養、そして治療として曝露される抗癌剤や放射線治療のストレス下で生存する癌細胞と SG との関わりが注目されており、抗癌剤耐性を伴う種の癌では SG 形成が過剰に形成され、細胞死が起きにくくなることが指摘されている。

### 2. 研究の目的

- (1). 種々の細胞ストレスが SG 形成および UBAP2L 発現の関連性およびそれらの子宮頸癌オカルト転移の形成・維持に果たす役割を解明する。
- (2). SG 形成および UBAP2L 発現の EMT 促進あるいは薬剤・放射線耐性維持機構を解明する。
- (3). SG 形成および UBAP2L 発現が免疫回避に及ぼす影響を探求する。

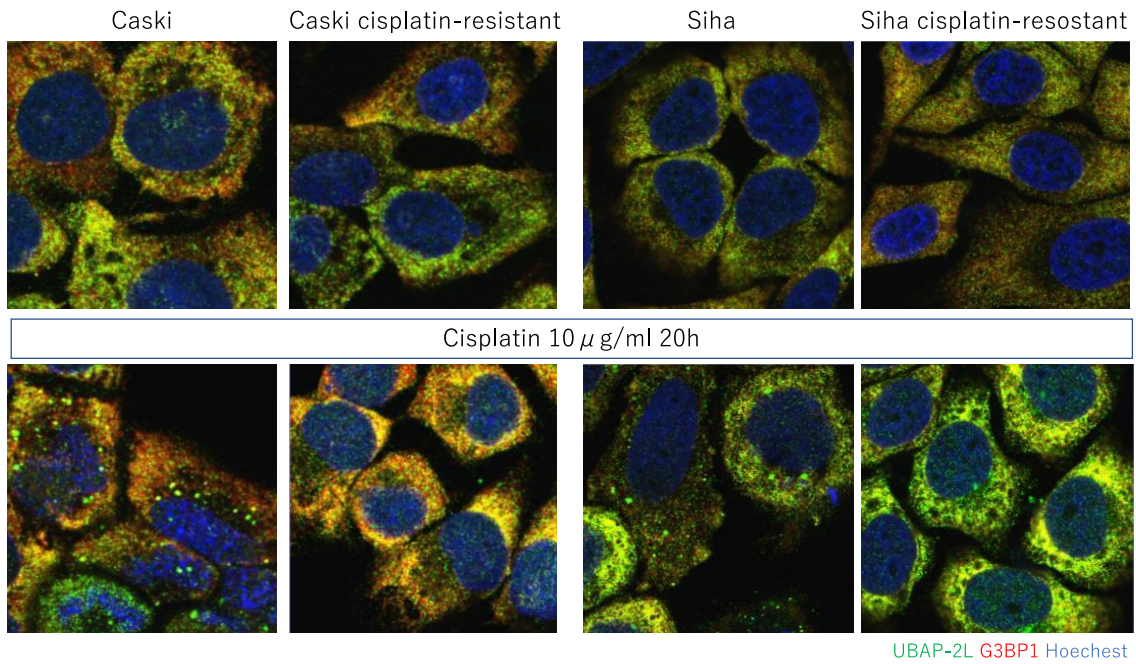
### 3. 研究の方法

- (1). SG 形成および UBAP2L 発現と薬物療法との関連を、細胞染色によって検討する。
- (2). 放射線照射により、子宮頸癌細胞の悪性化が生じるかを検討するため、EMT マーカー発現、VEGF 分泌に関して検証する。
- (3). 進行子宮頸癌の患者由来組織を使用した ex vivo 実験モデルを構築する。

### 4. 研究成果

- (1). 子宮頸癌細胞株である Caski と Siha、及びそれらのシスプラチン耐性細胞株を用いて、シスプラチン添加による SG 形成および UBAP2L 発現を、細胞染色により評価した。その結果、Caski、Siha いずれの親株において、シスプラチン添加により SG 形成および UBAP2L 発現を確認した。一方で、シスプラチン耐性細胞株においては、SG 形成および UBAP2L 発現を認めなかった（図 1）。これにより、シスプラチン暴露により抵抗性を獲得した子宮頸癌細胞では、シスプラチンによるストレスへの抵抗性が生じている可能性が示唆された。

図 1. 子宮頸癌細胞株およびシスプラチン耐性株における SG 及び UBAP2L 発現



(2). 進行子宮頸癌への標準治療として放射線照射は一般的なものであるが、長期の放射線暴露による子宮頸癌の進展が生じる可能性が示唆されている。このことから、放射線照射により、子宮頸癌細胞の悪性化が生じるかを検討するため、上皮間葉転換 (EMT) マーカー発現、VEGF 分泌に関して検証した。その結果、放射線照射に伴い、子宮頸癌細胞からの VEGF 分泌は亢進し (図 2)、代表的 EMT マーカーの一つである E-cadherin の減少を認めた (図 3)。これより、放射線照射により、子宮頸癌細胞の悪性化が一部促進されることが判明した。

図 2. 子宮頸癌細胞株およびシスプラチン耐性株における SG 及び UBAP2L 発現

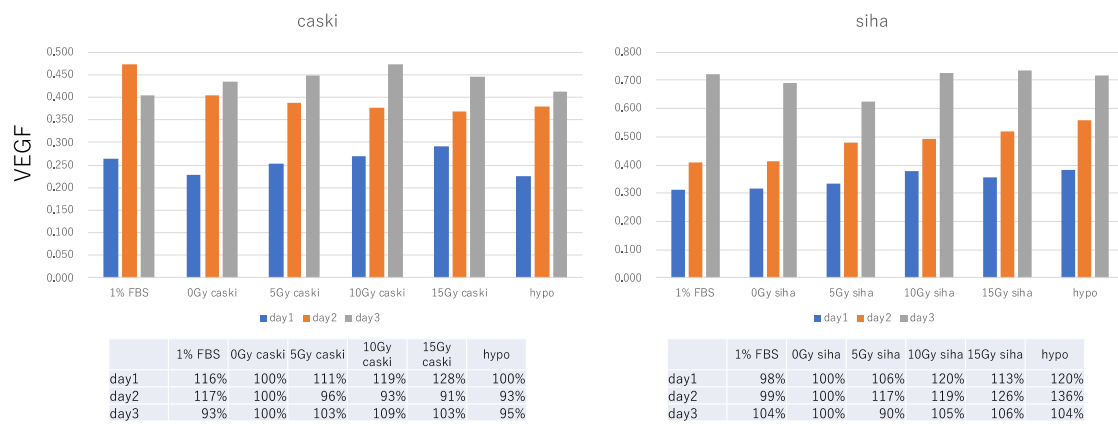
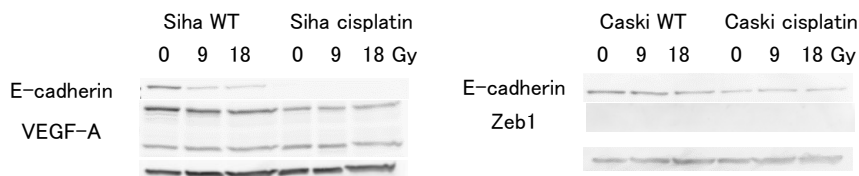


図 3. 子宮頸癌細胞株およびシスプラチン耐性株における SG 及び UBAP2L 発現





5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 YOSHIDA KOSUKE, KAJIYAMA HIROAKI, INAMI ERI, TAMAUCHI SATOSHI, IKEDA YOSHIKI, YOSHIKAWA NOBUHISA, NISHINO KIMIHIRO, UTSUMI FUMI, NIIMI KAORU, SUZUKI SHIRO, SHIBATA KIYOSUMI, NAWA AKIHIRO, KIKKAWA FUMITAKA	4. 巻 34
2. 論文標題 Clinical Significance of Ubiquitin-associated Protein 2-like in Patients With Uterine Cervical Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 109 ~ 116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/invivo.11751	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0件

〔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
---------	---------