

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18966

研究課題名(和文) 機械感受性イオンチャネルPiezo1による口腔癌進展制御機構の解明

研究課題名(英文) Investigation of the mechanism of oral squamous cell carcinoma tumorigenesis through PIEZO1

研究代表者

長谷川 佳那 (Hasegawa, Kana)

九州大学・歯学研究院・助教

研究者番号：30793989

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)：本研究では、口腔扁平上皮癌(OSCC)におけるHippo pathwayと機械感受性イオンチャネルPIEZO1の相互作用およびPIEZO1の腫瘍形成における機能について検討した。

浮遊培養法にて、ヒトOSCC細胞株におけるPIEZO1の発現がYAPシグナルに制御されることを見出した。また、PIEZO1ノックダウンはPIEZO1アゴニスト依存的な細胞内カルシウムイオンの流入、ERKのリン酸化およびOSCC細胞株の細胞増殖を抑制した。OSCC病理組織標本において腫瘍部でYAPは高頻度に核に局在し、PIEZO1およびKi-67と共局在した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

OSCCでは、他の癌腫において治療標的となる遺伝子異常が少ないことが報告されている。そのため、治療標的となる異常に活性化した細胞内シグナル伝達の同定はOSCCの新規の治療法の開発に繋がることが期待される。本研究はYAPシグナルがOSCCにおいて異常に活性化し、PIEZO1の発現を介して、OSCCの細胞増殖を制御することを明らかにした。本研究の成果はCaイオンチャネルを介した異常なシグナル伝達の活性化は口腔扁平上皮癌の新たな治療標的となりうる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the interaction of Hippo pathway and PIEZO1 in oral squamous cell carcinoma (OSCC) and the function of Hippo pathway on the tumorigenesis in OSCC.

It was found that YAP signal controlled PIEZO1 expression in suspension culture in OSCC cell lines. Knockdown of PIEZO1 by siRNA reduced PIEZO1 agonist-dependent Ca²⁺ influx, ERK1/2 activation, and OSCC cellular growth. Immunohistochemical analyses were showed that YAP was expressed in the nucleus in tumor lesions in OSCC specimens, and YAP in the nucleus was detected in tumor lesions with frequent expression of both PIEZO1 and Ki-67 in OSCC specimens. These results suggest that the YAP/PIEZO1 axis promotes OSCC cell proliferation.

研究分野：口腔病理

キーワード：口腔扁平上皮癌 PIEZO1 Hippoシグナル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌における細胞外基質の硬化は腫瘍形成に影響を及ぼすことが報告されている。Hippo pathway は細胞外環境を認識し、遺伝子発現を介して、複数の癌腫の腫瘍形成を制御する新たなシグナルとして注目されている。一方、カルシウムイオンチャネル PIEZO1 は機械受容器として同定され、発生期の形態形成に関与するが、腫瘍形成における機能は不明である。また、口腔癌における Hippo pathway と PIEZO1 との関係も不明である。そこで、本研究では、Hippo pathway および PIEZO1 の相互作用が口腔扁平上皮癌 (OSCC) の腫瘍形成に関与するのではないかという着想に至った。

2. 研究の目的

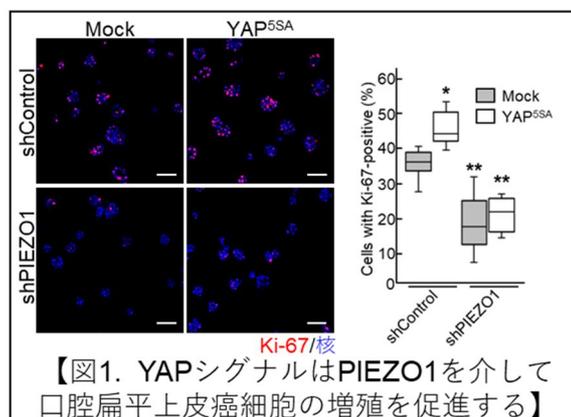
本研究では、OSCC における Hippo pathway と PIEZO1 の相互作用および腫瘍形成、特に細胞増殖に与える影響について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 細胞外環境による OSCC 細胞株の細胞増殖への影響の検討
二次培養、三次元培養および浮遊培養を用いて OSCC 細胞株の細胞増殖への影響を検討した。
- (2) PIEZO1 発現制御機構の解明
浮遊培養法を用いて、PIEZO1 の発現制御機構を解明した。また、YAP 活性型である YAP^{SSA} を過剰発現させた OSCC 細胞株における PIEZO1 の発現への影響を検討した。
- (3) OSCC 細胞株における PIEZO1 の機能解析
OSCC 細胞株において siRNA または shRNA を用いて PIEZO1 をノックダウンし、増殖に与える影響を検討した。
- (4) OSCC 病理組織標本における PIEZO1 および YAP の発現の検討
口腔扁平上皮癌組織標本を用いて免疫組織化学染色法にて PIEZO1 および YAP の発現を検討した。

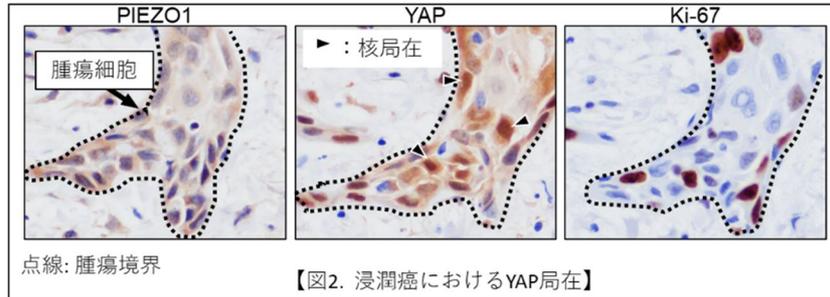
4. 研究成果

- (1) 細胞外環境による OSCC 細胞株の細胞増殖への影響の検討
二次培養と比較し、三次元培養および浮遊培養は OSCC 細胞株の増殖を抑制した。また、浮遊培養にて YAP/TAZ の発現は時間依存的に減少し、YAP/TAZ の転写標的因子 (ANKRD1、CYR61) も浮遊培養にて減少した。
- (2) PIEZO1 発現制御機構の解明
OSCC 細胞株を浮遊培養すると YAP/TAZ の発現と同様に PIEZO1 の発現は時間依存的に減少した。また siRNA による YAP/TAZ ノックダウンにより PIEZO1 の発現は減少し、YAP^{SSA} を過剰発現させると、浮遊培養での PIEZO1 の発現抑制がレスキューされた。
- (3) OSCC 細胞株における PIEZO1 の機能解析
 - ・ OSCC 細胞株にて siRNA を用いて PIEZO1 をノックダウンすると mRNA、タンパクの発現および PIEZO1 アゴニスト依存的な細胞内 Ca イオンの流入が抑制された。
 - ・ OSCC 細胞株にて PIEZO1 をノックダウンすると、細胞増殖が抑制された。また PIEZO1 アゴニスト依存的な ERK1/2 のリン酸化が抑制された。
 - ・ 恒常的に PIEZO1 がノックダウンされた OSCC 細胞株 (shPIEZO1) を樹立した。この細胞株では PIEZO1 アゴニスト依存的な細胞内 Ca イオンの流入を抑制した。また、この細胞株に YAP^{SSA} を過剰発現させるとコントロールでは YAP^{SSA} の発現は Ki-67 陽性細胞数を増加させたが、shPIEZO1 では抑制された (図 1)。



- (4) OSCC 病理組織標本における PIEZO1 および YAP の発現の検討
OSCC 病理組織標本における PIEZO1、YAP および Ki-67 の発現を免疫組織化学染色法にて

解析したところ、PIEZO1は腫瘍部では全症例の細胞質に発現していた。また、その発現強度は非腫瘍部と比較し、腫瘍部で有意に高かった。YAPは腫瘍部において高頻度に核に局在し、腫瘍部においてYAP、PIEZO1およびKi-67は高頻度で共局在した(図2)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hasegawa K, Fujii S, Matsumoto S, Tajiri Y, Kikuchi A, Kiyoshima T.	4. 巻 253(1)
2. 論文標題 YAP signaling induces PIEZO1 expression to promote oral squamous cell carcinoma cell proliferation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Pathol	6. 最初と最後の頁 80-93
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/path.5553	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii S, Tajiri Y, Hasegawa K, Matsumoto S, Yoshimoto RU, Wada H, Kishida S, Kido MA, Yoshikawa H, Ozeki S, Kiyoshima T.	4. 巻 100(2)
2. 論文標題 The TRPV4-AKT axis promotes oral squamous cell carcinoma cell proliferation via CaMKII activation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lab Invest.	6. 最初と最後の頁 311-323
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41374-019-0357-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井 慎介、長谷川 佳那、清島 保
2. 発表標題 YAP-PIEZO1シグナルは口腔扁平上皮癌の細胞増殖を制御する
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川佳那、藤井慎介、清島保
2. 発表標題 Hippo-PIEZO1シグナルは口腔扁平上皮癌の細胞増殖を制御する
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長谷川佳那、藤井慎介、清島保
2. 発表標題 Hippo-PIEZO1シグナルは口腔扁平上皮癌の細胞増殖を制御する
3. 学会等名 九大病理研究会
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