

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10161

研究課題名（和文）ヒト唾液腺腫瘍における核内受容体を介した抗癌剤抵抗性獲得機序に関する研究

研究課題名（英文）Study on the Mechanism of Nuclear Receptor-mediated Acquisition of Anticancer Drug Resistance in Human Salivary Gland Tumors

研究代表者

石岡 康希（ISHIOKA, YASUKI）

広島大学・病院（歯）・歯科診療医

研究者番号：70770840

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：CD44高発現を示す唾液腺癌細胞における核内受容体NR4A2のアポトーシス抵抗性を検討した結果、NR4A2 siRNAノックダウン後、5-FUにより誘導されるアポトーシス細胞の割合は増加した。また、CD44高発現を示す唾液腺癌細胞からCD44high/ESALow細胞、CD44high/ESAhigh細胞を分離し、5-FUにより誘導されるアポトーシスの抵抗性への液性因子の関与を検討した結果、CD44high/ESALow細胞が産生するPGE2が、CD44high/ESAhigh細胞の5-FUにより誘導されるアポトーシスの抵抗性に関与することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NR4Aファミリーが抗腫瘍免疫応答の抑制機構に関与することが示唆される報告もあるが、唾液腺癌における抗癌剤抵抗性に関与する可能性についての報告は多くない。今回の研究結果から、CD44高発現を示す唾液腺癌細胞のアポトーシス抵抗性にNR4A2が関与している可能性が示唆され、CD44high/ESALow細胞が産生するPGE2が、CD44high/ESAhigh細胞の5-FUにより誘導されるアポトーシス抵抗性に関与することが示された。このことから、唾液腺癌細胞における抗癌剤抵抗性獲得機序に核内受容体およびPGE2など液性因子が介している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We examined the apoptosis resistance of the nuclear receptor NR4A2 in salivary gland carcinoma cells showing CD44 high expression and found that the percentage of apoptotic cells induced by 5-FU increased after NR4A2 siRNA knockdown. We also isolated CD44high/ESALow and CD44high/ESAhigh cells from salivary gland carcinoma cells showing high CD44 expression and examined the involvement of humoral factors in resistance to apoptosis induced by 5-FU, and found that PGE2 produced by CD44high/ESALow cells, CD44high/ESAhigh cells were shown to be involved in the resistance to 5-FU-induced apoptosis in CD44high/ESAhigh cells.

研究分野：外科系歯学

キーワード：抗癌剤抵抗性 唾液腺癌 核内受容体

1. 研究開始当初の背景

オーファン核内受容体である NR4A ファミリーは、NR4A1、NR4A2、NR4A3 の 3 種からなり、いずれも生理的なリガンドは不明であるが、アポトーシス誘導、腫瘍形成、免疫応答、細胞周期制御など様々な生体応答に関与することが報告されている。最近でも、NR4A ファミリーが抗腫瘍免疫応答の抑制機構に関与することが示唆される報告もある。我々は、NR4A2 が、口腔扁平上皮癌細胞における抗癌剤抵抗性に関与する可能性を示してきたが、唾液腺癌細胞における研究報告は多くない。ヒト唾液腺癌における核内受容体を介した抗癌剤抵抗性の獲得機序を明らかにすることは重要であると考えられる。

2. 研究の目的

頭頸部癌において、特に唾液腺癌の分子生物学的な面では未だ不明な部分が多い。我々は、頭頸部扁平上皮癌細胞において、癌幹細胞形質を有する CD44 高発現細胞を同定している。また、近年、核内受容体 NR4A ファミリーが、細胞質においてアポトーシス誘導能をもつことが報告され、NR4A が制御する細胞応答が多岐にわたることが示唆されている。我々は、NR4A ファミリーの一つである転写因子 NR4A2 について検討を行い、口腔扁平上皮癌細胞において NR4A2 が抗癌剤抵抗性に深く関与していることを明らかにした。一方で、唾液腺癌細胞においては、癌幹細胞形質や抗癌剤抵抗性に影響を及ぼす因子について未だ明確ではない。これまでの我々の成果をさらに発展させて、外因性の液性因子及び核内受容体 NR4A ファミリーに着目し、唾液腺癌幹細胞における抗癌剤抵抗性の獲得機序を検討し、解明していくことを目的とする。

3. 研究の方法

以下の 4. 研究成果に記載した通りに、下記の研究を行った。

- (1) 唾液腺癌幹細胞における抗癌剤抵抗性の検討
- (2) 核内受容体 NR4A ファミリーに関するアポトーシス抵抗性の検討
- (3) 5-FU により誘導されるアポトーシス抵抗性と内因性 PGE₂ との関連についての検討
- (4) CD44 高発現唾液腺癌細胞における核内受容体 NR4A ファミリーに関するアポトーシス抵抗性の検討

4. 研究成果

- (1) 唾液腺癌幹細胞における抗癌剤抵抗性の検討

唾液腺癌由来細胞株を用いて、CD44 と ESA (epithelial specific antigen) をマーカーとして FACS 解析を行い、CD44^{high}/ESA^{low} 細胞、CD44^{high}/ESA^{high} 細胞、CD44^{low} 細胞をそれぞれ分離し、5-FU により誘導されるアポトーシス細胞を検出して、抗癌剤抵抗性について検討した。その結果、CD44^{high}/ESA^{low} 細胞は最も高い抗癌剤抵抗性を示し、また CD44^{high}/ESA^{high} 細胞の抗癌剤抵抗性は外因性 PGE₂ により増加した。

- (2) 核内受容体 NR4A ファミリーに関するアポトーシス抵抗性の検討

核内受容体 NR4A ファミリーである NR4A2 発現について CD44^{high}/ESA^{high} 細胞における検討を行い、蛍光免疫染色にて NR4A2 は主に核内に発現を認めた。さらに、PGE₂ 添加によって NR4A2 の mRNA 発現は増加し、PKA inhibitor の添加により、NR4A2 mRNA 発現は減少した。以上の結果から、CD44^{high}/ESA^{high} 細胞の NR4A2 の発現には PGE₂ が関与していることが示唆された。

- (3) 5-FU により誘導されるアポトーシス抵抗性と内因性 PGE₂ との関連についての検討

CD44^{high}/ESAlow 細胞は高い PGE2 産生能を示し、共培養実験の結果、CD44^{high}/ESA^{high} 細胞の 5-FU により誘導されるアポトーシス抵抗性に CD44^{high}/ESAlow 細胞が産生する PGE2 が関与する可能性が示唆された

(4) CD44 高発現唾液腺癌細胞における核内受容体 NR4A ファミリーに関するアポトーシス抵抗性の検討

CD44 高発現唾液腺癌細胞では、NR4A2 siRNA ノックダウン後、5-FU により誘導されるアポトーシス細胞の割合は増加した。このことから、NR4A2 が CD44 高発現唾液腺癌細胞のアポトーシス抵抗性に関与している可能性が示唆された。

NR4A ファミリーが抗腫瘍免疫応答の抑制機構に関与することが示唆される報告もあるが、唾液腺癌における抗癌剤抵抗性に関与する可能性についての報告は多くない。今回の研究結果から、CD44 高発現を示す唾液腺癌細胞のアポトーシス抵抗性に NR4A2 が関与している可能性が示唆され、CD44^{high}/ESAlow 細胞が産生する PGE2 が、CD44^{high}/ESA^{high} 細胞の 5-FU により誘導されるアポトーシス抵抗性に関与することが示された。このことから、唾液腺癌細胞における抗癌剤抵抗性獲得機序に核内受容体および PGE2 など液性因子が介している可能性が示唆された。

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 Shigeishi H, Yokoyama S, Murodumi H, Sakuma M, Fukada S, Okuda S, Yamakado N, Ono S, Takechi M, Ohta K.	4. 巻 51
2. 論文標題 Melatonin enhances cispatin-induced cell death through inhibition of DERL1 in mesenchymal-like CD44highOSCC cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Oral Pathol Med.	6. 最初と最後の頁 219-310
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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
研究分担者	小野 重弘 (ONO SHIGEHIRO) (70379882)	広島大学・医系科学研究科（歯）・助教 (15401)	

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