

論文内容要旨

CD44s Induces miR-629-3p Expression in Association with Cisplatin Resistance in Head and Neck Cancer Cells

(CD44s は頭頸部癌細胞のシスプラチン耐性に関連して miR-629-3p の発現を誘導する)

Cancer Science (投稿中)

口腔外科学 筑田 洵一郎

cis-diamminedichloro-platinum (II) (シスプラチン、CDDP) は頭頸部癌を含むさまざまな癌治療に使用されており、細胞における DNA 損傷、複製阻害、転写阻害および細胞周期の停止をもたらし、アポトーシスを引き起こすことで、抗癌作用を誘導する。しかし、一部の症例において癌細胞がシスプラチンに対して抵抗性を示し、化学療法が奏効せず、抗癌剤治療の障害となっており、抗癌剤耐性は現在の癌化学療法を施行するうえで最も深刻な問題の一つとされている。

そこで我々は、頭頸部癌の治療抵抗性を紐解くうえで癌幹細胞とマイクロ RNA (microRNA; miR) に注目した。癌幹細胞は抗癌剤耐性や造腫瘍性を持ち、再発や転移の原因の一つとして考えられている。頭頸部癌細胞の癌幹細胞は、複数の splicing variant をもつ CD44 膜タンパク質を発現しており、先行研究により、シスプラチンの耐性化に伴い CD44s の発現が亢進することが報告されている。また、microRNA は約 20 塩基対の機能性小分子 RNA であり、標的とする遺伝子の mRNA に結合することで、その発現を負に制御する働きがある。特に、癌関連遺伝子を標的とする microRNA は、腫瘍抑制性の microRNA として注目されており、癌治療において有用である可能性が示唆されている。

まず我々は、ヒト口腔扁平上皮癌細胞の SAS 細胞に CD44s を遺伝子導入することで、SAS/CD44s 細胞を樹立した。これらの口腔癌細胞に対してマイクロアレイを用いて microRNA の発現量を解析した結果、それぞれで発現量の異なる microRNA を同定した。得られた結果をもとに、SAS/CD44s 細胞で発現量が有意に上昇している 14 種類の microRNA を SAS 細胞に単独でトランスフェクションし、シスプラチンの有無による細胞生存率、アポトーシス能、遊走能の違いを分析した。その結果、3 種類の microRNA (miR-210-3p、miR-629-3p、miR-874-3p) はシスプラチン環境下で有意にシスプ

ラチンへの耐性を示し、特に miR-629-3p が発現している細胞でアポトーシスの抑制と細胞遊走の促進に関与していることが確認された。また、miR-629-3p により発現が低下している遺伝子群と miR-629-3p の標的遺伝子予測プログラム (Target Scan、miRDB、DIANAmicroT-CDS) を用いた比較解析により、34 遺伝子を miR-629-3p の標的候補として選抜した。さらに、定量的 PCR、およびウエスタンブロッティングを用いて miR-629-3p の標的遺伝子を探索した結果、SLC2A3 がシスプラチン耐性を調節することが示唆された。また、異種移植性モデルマウスにおいても、miR-629-3p が SAS 細胞にシスプラチンへの耐性を示すことが確認された。 Kaplan-Meier 法を用いた生存時間分析によると、miR-629-3p の発現量の増加は、頭頸部癌患者の生存率低下と関連する傾向にあることが示唆された。

我々は miR-629-3p の発現増加が頭頸部癌におけるシスプラチン抵抗性に関わる分子メカニズムの一端であることを解明した。つまり、これらの知見は化学療法に対する抵抗性を解除するための治療標的として miR-629-3p が役立つ可能性があることを示唆した。