

**【要約】**

**Activin B induces cellular migration and invasion in oral squamous cell carcinoma**

(アクチビン B は口腔扁平上皮癌において浸潤能と遊走能を誘導する)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任: 丹沢 秀樹 教授)

喜田 晶洋

**【要約】**

**【目的】** 口腔扁平上皮癌（OSCC）は、局所浸潤性および所属リンパ節転移の割合が高いことを特徴とする。癌細胞の転移は死亡率の重要な要素であり、患者の予後を改善するためには、OSCCにおける転移の分子メカニズムを解明することが重要である。しかしその詳細なメカニズムについては、まだ不明な点も多い。Activin B は inhibin $\beta$  サブユニット (INHBA, INHBB) がジスフィル結合したホモ2量体で TGF- $\beta$  super family に属しているサイトカインである。正常組織において、Activin B (BB-BB) は広範な組織分布を示すとともに、細胞増殖抑制、細胞分化誘導、アポトーシス誘発など多彩な生理作用を有している。口腔扁平上皮癌（OSCC）において分子機能や臨床的意義は全く解明されていない。本研究は網羅的遺伝子解析により OSCC の新規発現亢進遺伝子として同定した Activin B (INHBB の二量体) について、分子生物学的機能解析を行い、OSCC における Activin B の役割を解明することを目的とした。

**【材料・方法】** 9種の OSCC 由来細胞株における INHBB 発現状態を、リアルタイム PCR 法およびウエスタンブロット法を用いて正常口腔粘膜上皮細胞(HNOKs)と比較し、口腔扁平上皮癌一次症例 103 例を用い、免疫組織染色法による INHBB 発現と各種臨床指標との相関関係を統計学的に解析した。次に2つの OSCC 由来細胞株について shRNA 導入による INHBB 発現抑制細胞およびコントロール細胞を作製し、細胞接着能、細胞浸潤能、細胞遊走能において比較を行った。続いてさらに、

INHBB 発現抑制細胞に Activin B タンパク (50ng/ml, 24h) で処理した後に, 細胞接着能, 細胞浸潤能, 細胞遊走能, 細胞増殖能において比較をおこなった。転移にはその過程における上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) の関与が報告されており, Activin B と EMT の関連は口腔癌において報告が見られないため, その関連について検討した。EMT 関連遺伝子のタンパク発現をウエスタンブロット法にて比較し, さらに蛍光免疫染色法を用いて局在と発現強度の解析を行った。

【結果】 解析したすべての OSCC 由来細胞株において, mRNA およびタンパクレベルでの INHBB の有意な発現上昇を認めた ( $p < 0.05$ )。口腔扁平上皮癌一次症例 103 例の免疫組織化学染色では, 正常組織部と比較して所属リンパ節で有意に INHBB 発現の亢進を認めた ( $p < 0.01$ )。shRNA 導入による INHBB の発現抑制により, 細胞接着能, 細胞浸潤能, 細胞遊走能において有意な低下が認められた ( $p < 0.05$ )。次に INHBB 発現抑制株に Activin B を 24 時間処理したところ, 細胞接着能, 細胞浸潤能, 細胞遊走能がコントロール細胞と同程度まで回復した。しかし細胞増殖能においては有意な差を認めなかった。これらの細胞を用いて EMT 関連遺伝子の発現を比較したところ, Activin B で処理した細胞は上皮系マーカーである E-cadherin および Zo-1 の発現抑制と, 間葉系マーカーである Snail の発現上昇を認めた。蛍光免疫染色法において Activin B で処理した細胞は E-cadherin 発現強度が抑制していることが認められた。FACS による細胞周期解析では G1 期停滞が認められた。

【結論】 本研究では in vitro, in vivo および臨床検体を用いた解析により, OSCC に

における INHBB の過剰発現と, Activin B が EMT 関連遺伝子を調節することにより転移に関与していることが明らかになった. 今後は Activin B が EMT を引き起こすメカニズムの解明や, また臨床応用へ向けた阻害剤や Drug Repositioning の同定などが求められる. Activin B は口腔癌転移調節因子としてだけでなく, 転移マーカーや抗癌剤開発へ向けた新たなシーズとなりうる可能性が示唆された.

Journal of Cancer

平成 28 年 12 月 12 日 投稿中