

## 研究題目 口腔がんにおける小胞体の品質管理システムの役割の解明

### 研究組織

研究代表者：西頭英起（宮崎大学医学部）

共同研究者：片桐豊雅（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：山隈優（宮崎大学医学部）

### 【1】研究の概要

#### [1-1]本研究の目的・概要

口腔がんは、顎口腔領域に発生する悪性腫瘍の総称であり、近年その発生頻度は増加傾向にある。リスク因子として飲酒・喫煙・慢性の機械的刺激などが挙げられ、これら複数の因子が作用して多段階的に口腔粘膜上皮ががんに移行すると考えられているが、口腔がんの悪性化の分子メカニズムは今のところ不明な点が多い。口腔がんの増殖と高度悪性化を制御するシグナル伝達経路は、新たな創薬のターゲットになると期待されている。固形がん組織内は、低栄養、低酸素、低 pH 環境であり、これらの環境下に細胞が晒された場合、不良タンパク質蓄積やカルシウムホメオスタシスの破綻などによる小胞体ストレス状態に陥ることが知られている。近年、小胞体ストレス応答は、がん細胞の増殖促進および生存に関与していることが明らかになっている。なかでも小胞体膜タンパク質 Derlin-1 は、小胞体ストレス時の小胞体品質管理に関与しており、乳がん、膀胱がん、肺がん組織などでは、健常組織と比較して Derlin-1 の発現が高いことが報告されている。

Derlin-1 高発現は、悪性度、リンパ節転移および予後に関与するにも関わらず、口腔がんにおける Derlin-1 の分子メカニズムに関する報告はほとんどない。申請者は、扁平上皮がん・口腔がん細胞株において Derlin-1 発現抑制により、その増殖及び遊走能が低下することを見出してきた経緯から、Derlin-1 ががん細胞において何らかのシグナルを介してその悪性化に寄与していると想定した。そのため、Derlin-1 の発現を抑制した細胞での RNA 発現解析を行うことで、網羅的に遺伝子群の変動を捉え、Derlin-1 の標的分子を探索した。これらの結果から得ら

れた Derlin-1 依存的な小胞体品質管理機構により、口腔がんの新規病態分子メカニズムを明らかにすることを試みた。

#### [1-2]研究の方法・経過

1. Derlin-1 依存的な経路の同定：HSC-4（ヒト口腔扁平上皮癌）と NR-S1K（マウス口腔扁平上皮癌）において、Derlin-1 が関与する病態分子メカニズムを解明するために、Derlin-1 を発現抑制した細胞株に対して RNA-seq 解析を行った。Gene ontology 解析、Pathway 解析などを駆使した網羅的な解析により、がん細胞における Derlin-1 に依存した経路を同定した。

2. Derlin-1 依存的な分子メカニズムの解明：RNA-seq 解析により同定された Derlin-1 の標的分子が病態にどのように関与するかについてのメカニズム解明を行った。具体的には、Derlin-1 依存的な経路がマウス病態組織においてどのように関与するかについて、ウェスタンブロットングによるタンパク質の生化学的解析、mRNA 精製より遺伝子発現解析などを用いて解析を行った。

### 【2】研究成果

#### [2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

Derlin-1 欠損細胞における mRNA 発現解析から、小胞体ストレスの誘導が確認された。これは、Derlin-1 が小胞体関連分解 (ERAD) の構成因子として小胞体品質管理に必須の分子であることから、想定された結果と言える。一方で、全く予期しない結果として、コレステロール合成経路の活性抑制が見いだされた。コレステロール合成経路は、小胞体局在膜型転写因子 SREBP-2 によって制御されており、その活性化程度をウェスタンブロットングにて検討し

た。その結果、核内に局在する活性化型 SREBP-2 が Derlin-1 欠損細胞では低下しており、その結果コレステロール合成が抑制されていることが明らかとなった。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

がん細胞はその特殊な環境下（腫瘍微小環境）から常に小胞体ストレス下に晒されており、その結果、小胞体ストレスセンサーは恒常的に働いているものと考えられる。小胞体膜タンパク質 Derlin-1 は、小胞体ストレス時の小胞体品質管理に関与しており、ある種のがん組織で高発現が認められるにも関わらず、がんにおける役割は不明な点が多い。がん細胞における Derlin-1 高発現の病態生理学的意義を解明するためにも、RNA-seq 解析による網羅的な遺伝子群の変動を捉えることが不可欠である。本共同研究により得られた研究成果は、口腔がんと Derlin-1 の関わりを明らかにするだけでなく、新たな抗がん剤のターゲットや新規バイオマーカーの発明に繋がるものと期待される。

### 【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

1) Sugiyama T, Murao N, Kadowaki H, Takao K, Miyakawa T, Matsushita Y, Katagiri T, Futatsugi A, Shinmyo Y, Kawasaki H, Sakai J, Shiomi K, Nakazato M, Takeda K, Mikoshiba K, Ploegh HL, Ichijo H, Nishitoh H: ERAD components Derlin-1 and Derlin-2 are essential for postnatal brain development and motor function. *iScience*. 24:102758 (2021)

[3-2] 学会発表

山隈優、門脇寿枝、西頭英起「口腔がんにおける小胞体品質管理機構の解明」令和3年度日本生化学会九州支部例会、web 開催、2021 年

[3-3] 成果資料等

上記論文 URL :

[https://www.cell.com/iscience/fulltext/S2589-0042\(21\)00726-4](https://www.cell.com/iscience/fulltext/S2589-0042(21)00726-4)

### 【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

今後は、本研究成果をもとに、口腔がんと Derlin-1 に関連して新たな抗がん剤のターゲットや新規バイオマーカーの発明を目指す。