

報道機関 各位

熊本大学

口腔がんが放射線耐性を獲得する新たな仕組みを解明
-新たな治療法開発に期待-

(ポイント)

- 放射線耐性を持つ口腔がん細胞から放出される細胞外小胞が、内包しているマイクロRNAという分子を介してアポトーシス（細胞死）を制御し、がん細胞に放射線抵抗性を獲得させることを明らかにしました。
- 口腔がん患者の血液中に存在するマイクロRNA（miR-503-3p）を測定することで、患者の放射線治療の治療効果や予後を予測できる可能性があることを明らかにしました。
- 細胞外小胞による新たな口腔がんの放射線耐性獲得メカニズムが明らかとなり、この仕組みを応用した新たな診断法・治療法の開発につながる可能性があります。

(概要説明)

熊本大学大学院生命科学研究部歯科口腔外科学講座の吉田遼司准教授、中山秀樹教授らの研究グループは、放射線治療が効きにくい口腔がん細胞が周囲に放出する細胞外小胞^{※1}とそこに含まれるマイクロRNA^{※2}という分子の解析を通じて、放射線が効きにくい口腔がん細胞が周囲の放射線が効きやすい口腔がん細胞に放射線耐性を獲得させる仕組みを明らかにしました。

口腔がんの治療において放射線治療は手術に次ぐ有用な治療法ですが、放射線治療に抵抗性を示し再発・増悪することが問題となっています。そのメカニズムは多岐に渡り、現在も様々な視点から研究が進んでいます。近年、他の悪性腫瘍では、細胞外小胞という様々な細胞が分泌する小胞が悪性腫瘍の治療抵抗性獲得に関わることが報告されていますが、口腔がんの放射線耐性と細胞外小胞との関わりについてはほとんど研究されていませんでした。

今回、本研究グループは、世界で初めて放射線耐性口腔がん細胞から分泌された細胞外小胞の単離に成功し、それを放射線が効きやすい口腔がん細胞に作用させました。その結果、放射線が効きにくい口腔がん細胞が、細胞外小胞の中に含まれるマイクロRNAの受け渡しを介してアポトーシス^{※3}制御を行い、放射線が効きやすいがん細胞に放射線耐性を獲得させることを明らかにしました。このメカニズムは、放射線に耐性を示す口腔がんの成立に寄与している可能性があります。また、口腔がん患者の血液中に存在するマイクロRNA（miR-503-3p）を測定することで、放射線治療の治療効果や予後^{※4}を予

測できる可能性があることを明らかにしました。今後さらに研究を進展させることで、細胞外小胞を標的とした放射線耐性口腔がんへの新たな診断法・治療法の開発に貢献することが期待できます。

本研究成果は、細胞外小胞研究において最も権威ある科学雑誌である「Journal of Extracellular Vesicles」に令和3年12月10日に掲載されました。本研究は、日本学術振興会「科学研究費助成事業 基盤研究(C)18K09771」などの支援を受けて実施したものです。

(説明)

[背景]

放射線治療は口腔がんに対する有効な治療法の一つですが、放射線治療が効かない、“放射線耐性がん細胞”の存在が臨床上の問題となっています。近年、様々な細胞が分泌する細胞外小胞が腫瘍細胞の治療抵抗性獲得に関与することが報告されてきましたが、口腔がんの放射線耐性と細胞外小胞との関わりについてはほとんど研究されていませんでした。

[研究の内容・成果]

実際に患者が受ける放射線治療と同じように放射線照射を行って樹立した、放射線が効きにくい口腔がん細胞（以下、放射線耐性細胞）から分泌される細胞外小胞を回収し（図1A）、放射線が効きやすい口腔がん細胞（放射線感受性細胞）に作用させ、放射線耐性の変化を調べました。その結果、放射線耐性細胞が分泌する細胞外小胞は、放射線感受性細胞の中に取り込まれ（図1B）、放射線耐性を獲得させることが明らかとなりました（図1C）。

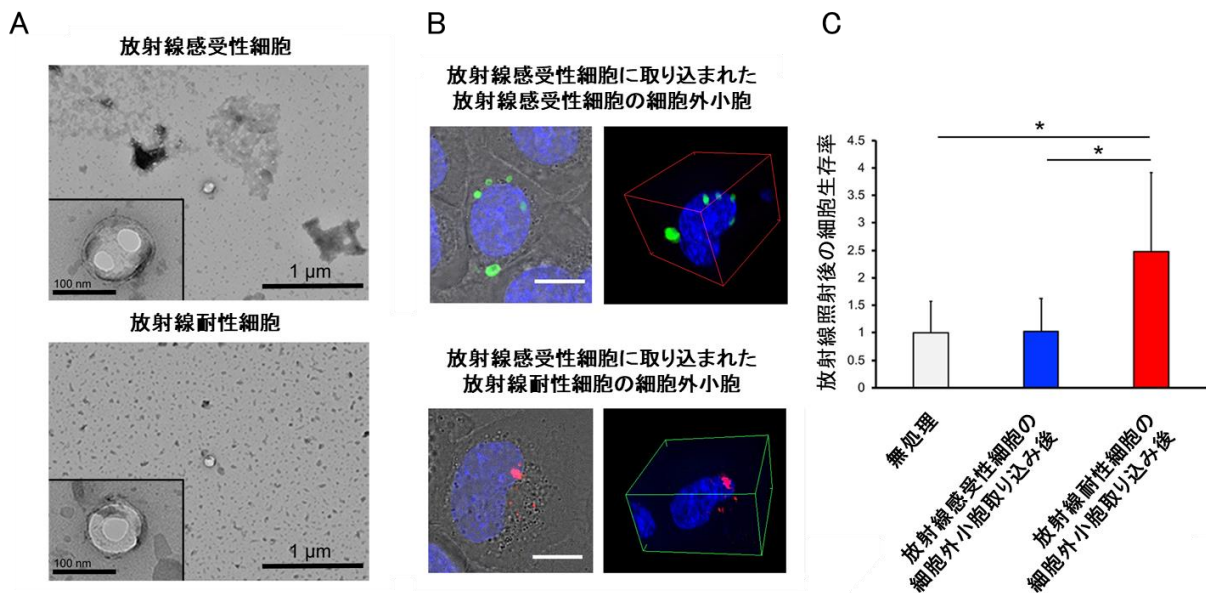


図1 口腔がん細胞から抽出した細胞外小胞と放射線抵抗性への影響

A: 放射線感受性細胞(上段)と放射線耐性細胞(下段)から抽出した細胞外小胞の電子顕微鏡像。左下の四角内は拡大像。

B: 放射線感受性細胞に取り込まれた細胞外小胞の蛍光顕微鏡画像。(上段)放射線感受性細胞(青色)の中に、放射線感受性細胞から放出された細胞外小胞(緑色)が取り込まれている。(下段)放射線感受性細胞(青色)の中に、放射線耐性細胞から放出された細胞外小胞(赤色)が取り込まれている。

C: 放射線感受性細胞に、放射線感受性細胞、放射線耐性細胞の各々から分泌された細胞外小胞が取り込まれた際の放射線耐性の変化。グラフは各条件での細胞の生存率を示す。グレー: 無処理、青: 放射線感受性細胞の細胞外小胞が作用した場合、赤: 放射線耐性細胞の細胞外小胞が作用した場合

また、細胞外小胞に含まれるマイクロRNAに着目し、放射線治療が奏効した口腔がん患者と、放射線治療が効きにくかった口腔がん患者の血中に存在する細胞外小胞に含まれるマイクロRNAの発現量を比較検討しました。同様に、放射線感受性口腔がん細胞と放射線耐性口腔がん細胞の細胞外小胞に含まれるマイクロRNAの発現量を比較検討しました。その結果、放射線治療が効きにくかった口腔がん患者と放射線耐性をもつ口腔がん細胞の両方で共通して発現が上昇しているマイクロRNA (miR-503-3p) を放射線耐性に関わるマイクロRNAとして同定しました (図2)。

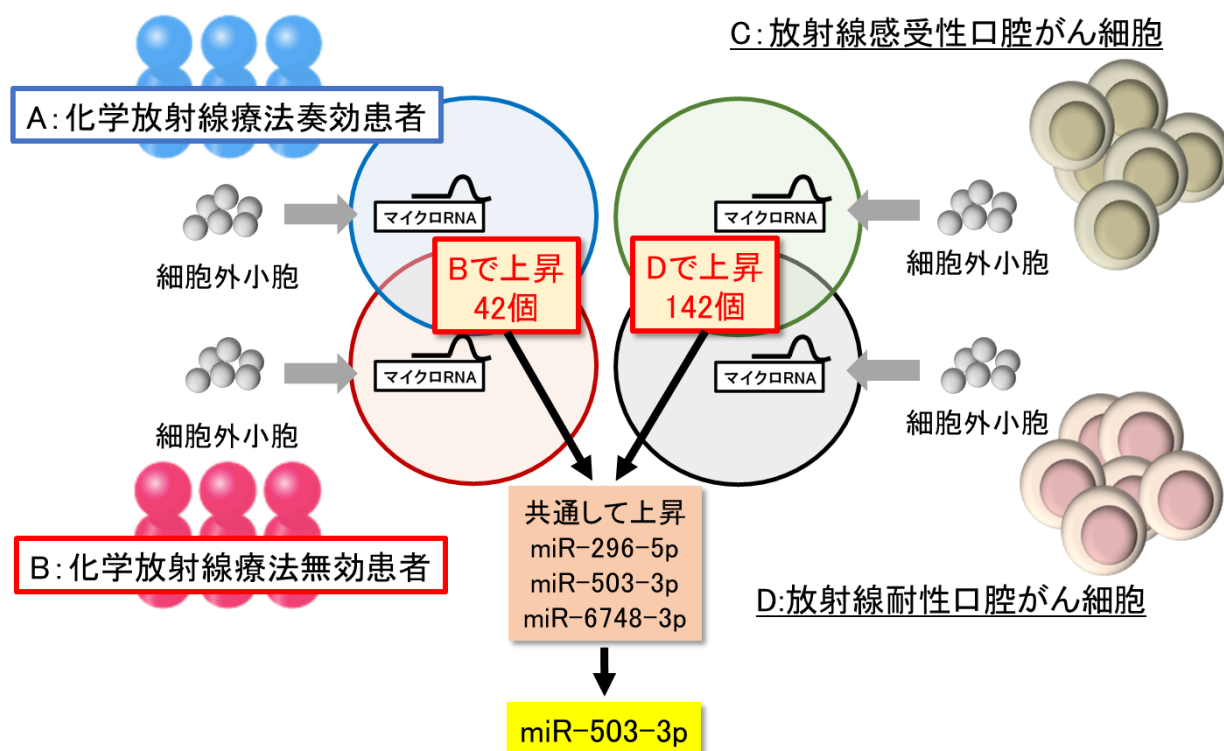


図2 放射線抵抗性に関わるマイクロRNA探索の概略図

化学放射線奏効患者と化学放射線療法無効患者から抽出した細胞外小胞に含まれるマイクロRNAの発現量を比較し、無効患者で上昇していたマイクロRNAを42個ピックアップした。放射線感受性細胞と放射線耐性細胞から抽出した細胞外小胞に含まれるマイクロRNAの発現量を比較し、142個のマイクロRNAをピックアップした。双方で発現が上昇していたマイクロRNA3つを用いて予備実験を行い、最終的にmiR-503-3pを放射線耐性に関わるマイクロRNAとして同定した。

同定したマイクロRNA (miR-503-3p) が、どのような仕組みで放射線耐性をコントロールしているかを解析した結果、細胞外小胞の中に含まれるマイクロRNAの受け渡しを介してアポトーシス促進タンパク質であるBAK*という分子の発現を抑制し、アポトーシスを起きにくくすることで放射線感受性細胞に放射線耐性を獲得させることを明らかにしました (図3)。

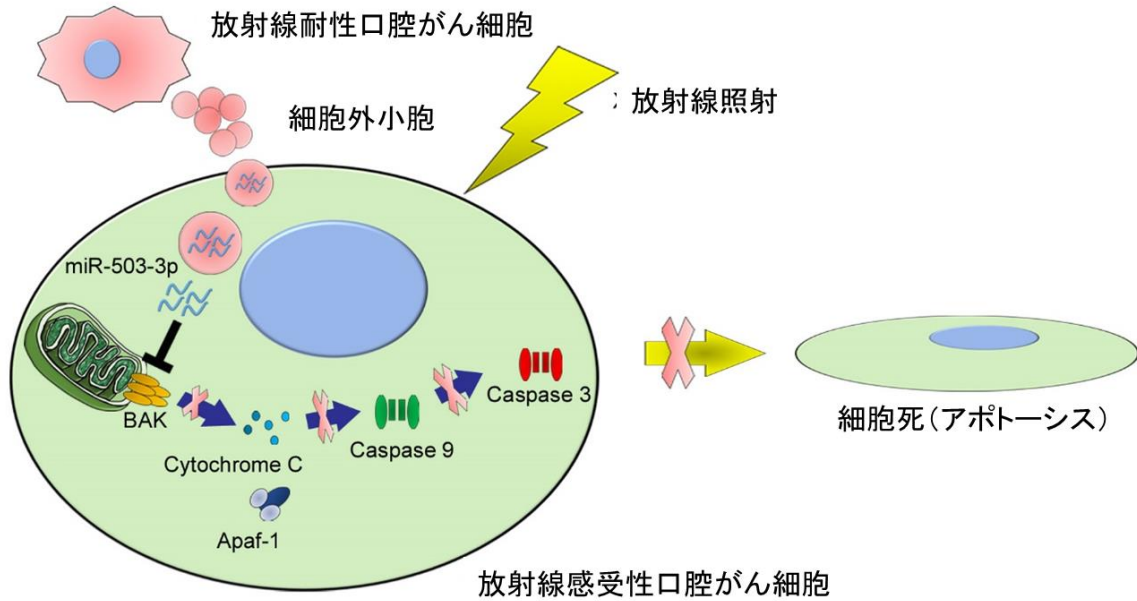


図3 今回の研究で明らかとなった放射線耐性メカニズム

放射線耐性口腔がん細胞から分泌された細胞外小胞は放射線感受性細胞に取り込まれ、miR-503-3pを放出する。放出されたmiR-503-3pがアポトーシス促進タンパク質であるBAKを抑制し、細胞死(アポトーシス)が起きにくくなり、放射線感受性細胞が放射線耐性を獲得する。

最後に、口腔がん患者の血液中に存在するマイクロRNAを測定することで、放射線治療の治療効果や予後を予測できるかを検討したところ、口腔がん患者の血液中に存在するマイクロRNA (miR-503-3p) の発現量が高いほど治療効果が乏しくなり、予後が悪くなるということが分かりました。つまり、血液中のマイクロRNA (miR-503-3p) を測定することで、口腔がん患者の放射線治療の治療効果や予後を予測できる可能性があることを明らかにしました (図4A、B)。

A

血液中のマイクロRNAの発現量と放射線治療との効果の関係

項目	合計	miR-503-3p 発現量		p-value
		高発現 人数 (%)	低発現 人数 (%)	
放射線治療の病理学的治療効果				
無効	12	8(66.7)	4(33.3)	0.003**
部分的奏効	13	6(46.1)	7(53.9)	
完全奏効	30	14(46.7)	16(53.3)	

B

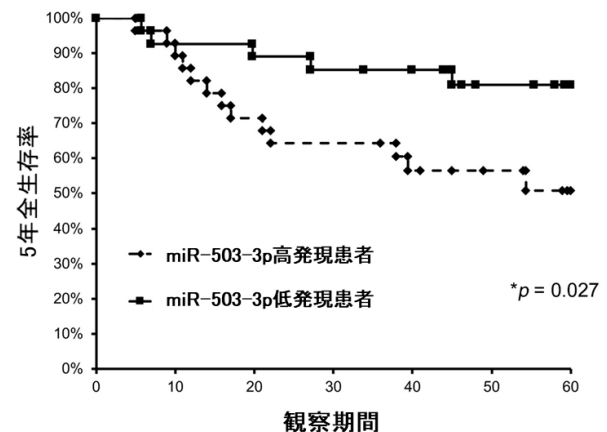


図4 血中マイクロRNAの発現量と放射線治療効果、患者予後との関係

A: 血中マイクロRNAの発現量と放射線治療効果との関係。マイクロRNAの発現量が高い患者では治療効果が乏しいケースの割合が高くなる(赤)。

B: 血中マイクロRNAの発現量と患者予後との関係。マイクロRNAの発現量が高い患者では5年生存率が有意に低くなる(破線)。

[展開]

今回の研究成果から、細胞外小胞による新たな口腔がんの放射線耐性獲得メカニズムが明らかとなりました。この仕組みを応用することで、放射線治療が効きにくい口腔がんの新たな診断・治療法の開発につながる可能性があります。

[用語解説]

※1 細胞外小胞：細胞が分泌する直径 40～5,000nm 程度の脂質 2 分子膜に覆われた小胞体。

※2 マイクロ RNA：20～25 塩基長の短い RNA 鎖である機能性核酸。細胞内には多種類のマイクロ RNA が存在し、主に、細胞外小胞に内包され、細胞外へ放出されることが知られている。

※3 アポトーシス：個体をより良い状態に保つために積極的に引き起こされる、管理・調節された細胞死のこと。がん細胞では、遺伝子変異などの影響でこの現象が起きにくくなっている。

※4 予後：患者が罹った疾患の今後の病状についての医学的な見通し。病気の進行具合、治療の効果、生存できる確率など、すべてを含めた見通しを指す。

※5 BAK：アポトーシス抑制タンパク質である Bcl-2 のパートナーとして同定され、ミトコンドリアにおいて細胞死を誘導するタンパク質。発現が抑制されることで細胞死が起きにくくなると考えられる。

(論文情報)

論文名：Extracellular vesicles derived from radioresistant oral squamous cell carcinoma cells contribute to the acquisition of radioresistance via the miR-503-3p-BAK axis

著者：Keisuke Yamana, Junki Inoue, Ryoji Yoshida, Junki Sakata, Hikaru Nakashima, Hidetaka Arita, Sho Kawaguchi, Shunsuke Gohara, Yuka Nagao, Hisashi Takeshita, Manabu Maeshiro, Rin Liu, Yuichiro Matsuoka, Masatoshi Hirayama, Kenta Kawahara, Masashi Nagata, Akiyuki Hirose, Ryo Toya, Ryuji Murakami, Yoshikazu Kuwahara, Manabu Fukumoto and Hideki Nakayama

掲載誌：Journal of Extracellular Vesicles

doi：10.1002/jev2.12169

URL：<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34894384/>

【お問い合わせ先】

熊本大学大学院生命科学研究部

歯科口腔外科学講座

担当：准教授 吉田遼司

電話：096-373-5288

e-mail：ryoshida@kumamoto-u.ac.jp