

論 文 内 容 要 旨

ZIP2 は EMT 誘導因子 Snail と Slug による
口腔扁平上皮癌細胞の EMT を制御する

主指導教員：菅井 基行教授

(基礎生命科学部門細菌学)

副指導教員：武知 正晃准教授

(応用生命科学部門口腔外科学)

副指導教員：宮内 睦美准教授

(基礎生命科学部門口腔顎顔面病理病態学)

山本 一博

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

論文内容要旨

論文題目 ZIP2 は EMT 誘導因子 Snail と Slug による口腔扁平上皮癌細胞の EMT を制御する

学位申請者 山本 一博

上皮間葉移行 (Epithelial Mesenchymal Transition, EMT) は、生理的プログラムである上皮性器官形成や上皮創傷治癒において、上皮系細胞が可逆性に間葉様細胞に転換する現象であり、癌細胞は浸潤・転移過程においてこの可逆性プログラムを利用する。申請者が所属する研究室では、EMT 誘導因子である Zinc-finger 型転写因子 Snail による、上皮形質を維持する口腔扁平上皮癌細胞の可逆性 EMT 誘導を解析してきた。その結果、上皮形質を維持する癌細胞の液性因子刺激による EMT 誘導において、内因性 Snail の発現亢進だけではなく Snail ファミリー分子 Slug も必要であることを示した。すなわち、液性因子刺激依存性の EMT を阻害するには、Snail と Slug 両者のノックダウンが必要であった。

申請者は、上皮形質を維持する口腔扁平上皮癌細胞株群が Slug を恒常的に発現していることに着目して、なぜ口腔扁平上皮癌細胞株は EMT 誘導因子である Slug を恒常的に発現したまま上皮形質を保てるのかという命題に対し、以下にあげた実験結果により解答を得た。

1. Slug 過剰発現による口腔扁平上皮癌細胞株 OM-1 の EMT 誘導効率は低く、4%程度であった。
2. EMT は Snail 強制発現により効率よく誘導されるが、内在性 Slug の発現がほぼ消失した。
3. 近年、Snail 誘導性 EMT において IL-6 依存性の Zn イオントランスポーター LIV1 (ZIP6) が Zinc 依存的 Snail 活性化を制御していることが明らかとなった。これに合致して、Snail 強制発現 OM-1 では IL-6 の発現亢進とともに内在性 LIV1 の発現が誘導されていた。
4. Slug 過剰発現 OM-1 では LIV1 の発現は認められなかったが、Zn イオントランスポーター ZIP2 の発現が亢進されていた。また、ZIP2 は OM-1 にも発現していたが、Snail 強制発現 OM-1 では発現が消失していた。
5. 内在性 Slug ノックダウンにより OM-1 の内在性 ZIP2 発現は抑制された。
6. Snail と Slug を同時に強制発現させた OM-1 は、LIV1 を発現して ZIP2 の発現は消失しており、EMT 誘導効率は Snail 単独発現のそれよりも高かった。
7. 強制発現によって ZIP2 を Snail 強制発現 OM-1 に回復させたところ、EMT 形質は

上皮形質へと逆行性に転換した。

8. ごく最近、ZIP2 が上皮特異的 Zn イオントランスポーターであり、上皮分化マーカーとなりうることが報告された。そこで、フローサイトメトリーで OM-1、Snail 強制発現 OM-1 および Snail/ZIP2 強制発現 OM-1 における細胞内 Zn 濃度と上皮特異的抗原 (Epithelial Specific Antigen, ESA) の発現を解析したところ、EMT 形質を持つ Snail 強制発現 OM-1 は Zn 濃度と ESA 発現が低いポピュレーションが大多数であった。一方で、Snail/ZIP2 強制発現 OM-1 では、OM-1 と同様の Zn 濃度と ESA 発現が高いサブポピュレーションが出現した。

以上の結果から、口腔扁平上皮癌細胞株 OM-1 は、EMT 誘導因子 Slug と共に ZIP2 を恒常的に発現しているため EMT を回避して上皮形質を保持していると推察された。また、Slug は ZIP2 の発現を正に制御していることが示唆された。一方で、OM-1 は EMT 誘導因子 Snail の発現を獲得した場合に ZIP2 の発現を消失した。Snail 強制発現は内在性 Slug の発現を消失させるため、共強制発現により Slug を回復しても内在性 ZIP2 の発現は回復しなかった。したがって、癌細胞が保有する Zn イオントランスポーターについて、上皮形質としての Zn イオントランスポーター ZIP2 の発現は EMT 誘導因子 Slug 発現下では保たれるが、新規に獲得した Snail の発現が Zn イオントランスポーターを間葉形質として LIV1 ヘスイッチさせることにより、Snail 存在下では EMT 誘導因子としての Slug の機能も開放されることが推察された。実際、Snail 強制発現による EMT は ZIP2 強制発現により回避されたことから、Snail ファミリーによる EMT を上皮特異的な Zn イオントランスポーター ZIP2 が阻害していることが、本研究で初めて明らかとなった。また、上皮には発現しない間葉型 Zn イオントランスポーター LIV1 は EMT に必須であることが報告されているが、ZIP2 を発現して上皮形質を維持する癌細胞の細胞内 Zn イオン濃度が、間葉形質に転換した LIV1 を発現する癌細胞より高いことが本研究で示され、Zn イオントランスポーターとしての特性の違いが Zinc-finger 型転写因子 Snail ファミリーの機能を制御する結果、EMT プログラムが制御されることが示唆された。