

## 機械受容器TRPV4は口腔扁平上皮癌細胞の増殖を促進する : Ca<sup>2+</sup>/CaMKII/AKTシグナル伝達を介して

田尻, 祐大

<https://hdl.handle.net/2324/4475041>

---

出版情報 : Kyushu University, 2020, 博士 (歯学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏 名 : 田尻 祐大

論 文 名 : 機械受容器 TRPV4 は口腔扁平上皮癌細胞の増殖を促進する  
~ Ca<sup>2+</sup>/CaMKII/AKTシグナル伝達を介して~

区 分 : 甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

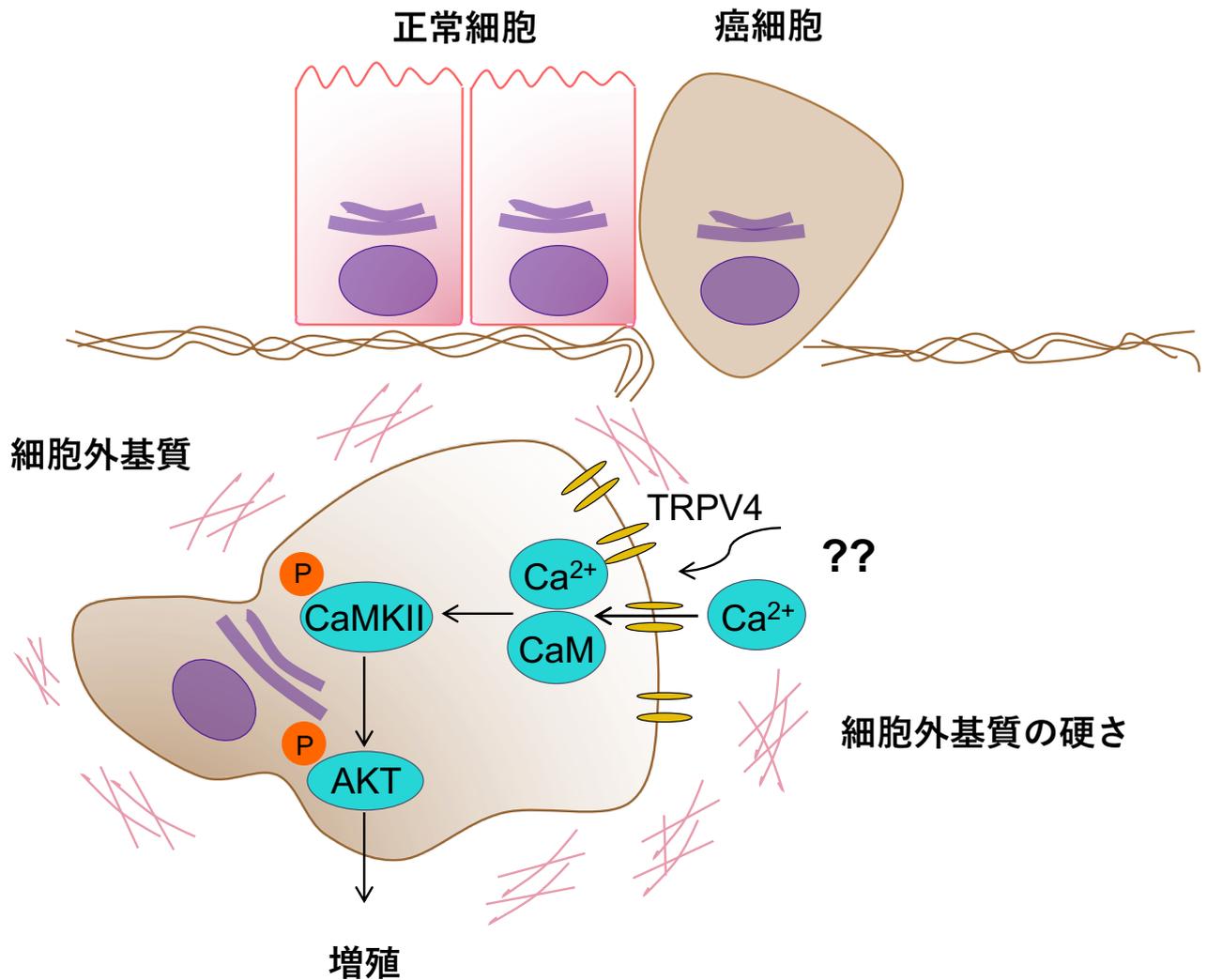
口腔癌の多くは、上皮由来の口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma: OSCC) であり、OSCC は基底膜を破壊して間質へと浸潤し、細胞外マトリックス (extracellular matrix: ECM) と接する。また、最近の研究では、ECM の硬さが増加すると、腫瘍細胞の増殖能や遊走能が増加することが示されており、腫瘍形成において極めて重要な影響を与えると考えられる。

transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) は Ca<sup>2+</sup>透過性の高い非選択的陽イオンチャネルで、物理刺激や化学刺激を感知する受容器であり、乳癌や胃癌などで、腫瘍形成を制御することについて報告されている。一方、OSCC における TRPV4 の発現と機能は不明である。本研究では、OSCC における TRPV4 の発現と機能を検討し、その分子基盤を明らかにすることを目的とした。

まず、TRPV4 は正常口腔扁平上皮細胞株と比較して、複数の OSCC 細胞株で高く発現しており、TRPV4 アゴニストで刺激すると TRPV4 の発現量に相関して Ca<sup>2+</sup>が細胞内に流入した。また、TRPV4 を発現している OSCC 細胞株において siRNA を用いて TRPV4 をノックダウン (knock down: KD) すると、細胞内 Ca<sup>2+</sup>が減少したことから、内因性 TRPV4 の発現が Ca<sup>2+</sup>チャネルとして機能していると考えられた。さらに、TRPV4 を KD すると、OSCC 細胞株の細胞増殖能と細胞遊走能が低下した。加えて、細胞内外の Ca<sup>2+</sup>をキレートすると、細胞増殖能が低下した。その程度は siRNA を用いて TRPV4 を KD した場合や、siRNA を用いた TRPV4 の KD とキレート剤を併用した場合と同程度であったこと、また、TRPV4 を KD した OSCC 細胞株に TRPV4 を過剰発現すると、これらの抑制効果が解除されたことから、内因性 TRPV4 の発現が細胞増殖を制御するのに十分であると考えられた。そこで、TRPV4 の下流シグナルについて検討したところ、TRPV4 の KD は、Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin 依存性プロテインキナーゼ II (calmodulin kinase II: CaMKII) と AKT のリン酸化を抑制した。また、shRNA を用いて TRPV4 を恒常的に KD したところ、低接着培養と 2D 培養では増殖能に有意差は認められなかったが、3D 培養における腫瘍細胞塊の大きさと増殖能は減少した。これらのことから、TRPV4 は ECM の硬さを含めた細胞外環境を感知して増殖を制御していると考えられた。

さらに、ヌードマウスを用いたゼノグラフトモデルにて、shRNA を用いて TRPV4 を恒常的に KD すると、腫瘍細胞増殖と AKT のリン酸化が抑制されたことから、TRPV4 の発現は *in vivo* における腫瘍細胞増殖に必要であった。加えて、OSCC 患者 36 例から得られた病理組織標本を免疫組織化学染色にて検討したところ、TRPV4 が非腫瘍部では発現が少なかったのに対し、腫瘍部では細胞膜と細胞質により多く発現しており、TRPV4 の発現を示す細胞には AKT のリン酸化が高頻度に認められた。

本研究の結果から、TRPV4 を介した  $\text{Ca}^{2+}$ 細胞内流入が CaMKII の活性化を介して AKT シグナル伝達を活性化することで、OSCC の細胞増殖が促進されることが示唆された。このことは、細胞外環境を OSCC の腫瘍細胞が認識し、細胞増殖を制御する機構の一端を見出したと考えられた。



#### TRPV4/CaMKII/AKT シグナル伝達の様式図

本研究では、TRPV4 が細胞外基質の硬さなどの細胞外環境に応答し、 $\text{Ca}^{2+}$ が細胞内流入すると、CaMKII を介した AKT シグナル伝達が活性化し、OSCC 細胞増殖が促進されることが示唆される。