

学位論文抄録

Involvement of ferroptosis-defensive xCT/GPX4 axis in radioresistance and its impacts on prognosis in oral squamous cell carcinoma
(口腔扁平上皮癌の放射線抵抗性におけるフェロトーシス防御性 xCT/GPX4 axis の関与と予後への影響)

石川 紘平

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻歯科口腔外科学

指導教員

中山 秀樹 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻歯科口腔外科学

Abstract of the Thesis

Background and Purpose: Radiotherapy is the main treatment for patients with advanced oral squamous cell carcinoma (OSCC), but its therapeutic efficacy is low and causes poor prognosis for patients. Therefore, the development of new treatment strategies is expected to solve the problem of radioresistance. Radiation induces ferroptosis, a form of cell death caused by iron-dependent lipid peroxidation. As the xCT/glutathione peroxidase 4 (GPX4) axis is primarily involved in the ferroptotic defense system, targeting this axis may increase the vulnerability of cancer cells to ferroptosis. However, the clinical significance of the xCT/GPX4 axis in OSCC and its potential as a therapeutic target remain unclear. Therefore, this study aimed to clarify that the xCT/GPX4 axis is involved in the antitumor effect of radiation in OSCC, and to clarify the effects of radiotherapy combined with a ferroptosis-inducing agent that targets the xCT/GPX4 axis.

Methods: First, we semiquantitated xCT and GPX4 expression using immunohistochemical staining using biopsy specimens from 92 OSCC patients who underwent surgical resection after preoperative chemoradiotherapy combined with 5-FU anticancer drugs. We evaluated the results and analyzed the relationship with various clinical items and prognosis. Next, we investigated the effects of erastin and RSL3, which induce ferroptosis by inhibiting xCT and GPX4, respectively, on radiosensitivity and lipid peroxidation in cultured OSCC cells. Furthermore, we investigated changes in lipid peroxidation during ferroptosis using deferoxamine, an iron chelator. In addition, we evaluated the therapeutic effects of combining radiation with erastin or RSL3 using a xenograft mouse model transplanted with OSCC cells.

Results: OSCC patients with high xCT and GPX4 expression had significantly lower overall survival and disease-free survival rates than those with low expression. Furthermore, multivariate analysis showed that high GPX4 expression was an independent factor for poor prognosis, and that the xCT/GPX4 axis influenced the clinical outcome of OSCC. Analysis using two OSCC cell lines revealed that survival of irradiated cells was increased by the ferroptosis inhibitor ferrostatin-1 and decreased by erastin or RSL3. Furthermore, the enhanced antitumor effects of erastin and RSL3 were accompanied by increased lipid peroxidation, which was suppressed by Deferoxamine. In an in vivo mouse model, antitumor efficacy was increased when radiation was combined with erastin or RSL3 compared to radiation alone. Furthermore, these effects were found to be associated with increased expression of 4-HNE, a lipid peroxidation marker, in tumor cells.

Conclusions: The xCT/GPX4 axis plays an important role in the radioresistance of OSCC, and induction of ferroptosis by targeting the xCT/GPX4 axis using erastin or RSL3 is therapeutically effective in OSCC patients who are resistant to radiotherapy. This may lead to improvement and increased survival rates.

学位論文抄録

[目的] 放射線療法は進行性の口腔扁平上皮癌(OSCC)患者の主要な治療法であるが、その治療効果は低く、患者の予後不良を引き起こす。そのため、放射線抵抗性の問題を解決するために、新たな治療戦略の開発が期待されている。放射線は鉄依存性脂質過酸化によって引き起こされる細胞死の一形態であるフェロトーシスを誘発する。xCT/グルタチオンペルオキシダーゼ 4 (GPX4) axis は主にフェロトーシス防御システムに関与しているため、このxCT/GPX4 axis を標的にするとフェロトーシスに対するがん細胞の脆弱性を増強させる可能性がある。しかしながら、OSCCにおけるxCT/GPX4 axisの臨床的意義と治療標的としての可能性は依然として不明である。そこで本研究は、OSCCにおいてxCT/GPX4 axisが放射線の抗腫瘍効果に関与し、xCT/GPX4 axisを標的にするフェロトーシス誘導剤を併用した放射線療法の効果を明らかにすることを目的とした。

[方法] まず、5-FU系抗癌剤を併用した術前化学放射線療法後に外科的切除を施行した92例のOSCC患者の生検標本を用いて、免疫組織化学的染色にてxCTとGPX4の発現を半定量的に評価し、各種臨床項目や予後との関連性を解析した。次に、xCTとGPX4をそれぞれ阻害することによりフェロトーシスを誘導するerastinとRSL3がOSCC培養細胞における放射線感受性や脂質過酸化に及ぼす影響を検討した。さらに、鉄キレート剤であるDeferoxamineを用いてフェロトーシスにおける脂質過酸化の変化を検討した。また、OSCC細胞を移植した異種移植マウスモデルを用いて、放射線とerastinあるいはRSL3を組み合わせた治療効果を評価した。

[結果] xCTおよびGPX4高発現しているOSCC患者群は全生存率、無病生存率ともに低発現患者群に比べて有意に低下していた。また、多変量解析ではGPX4高発現は独立した予後不良因子であり、xCT/GPX4 axisがOSCCの臨床転帰に影響を与えることが示された。2種類のOSCC細胞株を使用した解析により、放射線照射を受けた細胞の生存率は、フェロトーシス阻害剤であるferrostatin-1によって増加し、erastinあるいはRSL3によって減少することが明らかになった。さらに、erastinとRSL3の抗腫瘍効果の増強には脂質過酸化の増加が伴ったが、これはDeferoxamineによって抑制された。in vivoマウスモデルでは、放射線単独と比較し、放射線とerastinあるいはRSL3の併用療法において抗腫瘍効果が増加した。また、これらの効果は腫瘍細胞における脂質過酸化マーカーである4-HNEの発現増加と関連していることが明らかとなった。

[考察] OSCCにおいて、xCT/GPX4 axisは放射線の抗腫瘍効果に関与することが示唆された。さらに、xCT/GPX4 axisを標的とするフェロトーシス誘導剤を併用した放射線療法がOSCC患者の予後を改善する可能性があることが示唆された。

[結論] OSCCの放射線抵抗性においてxCT/GPX4 axisは重要な役割を果たしており、erastinあるいはRSL3を用いてxCT/GPX4 axisを標的とするフェロトーシスの誘導は、放射線治療に抵抗性を示すOSCC患者において治療効果改善と生存率向上につながる可能性がある。