

学位論文抄録

FOXM1-mediated regulation of reactive oxygen species and radioresistance in oral squamous
cell carcinoma cells

(FOXM1 を介した口腔扁平上皮癌細胞における活性酸素の制御と放射線抵抗性)

竹 下 尚 志

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: Radioresistance is a major obstacle to the successful treatment of oral squamous cell carcinoma (OSCC). To help overcome this issue, we have developed clinically relevant radioresistant (CRR) cell lines, generated by irradiating parental cells over time, which are useful for OSCC research. In the present study, we conducted gene expression analysis using CRR cells and their parental lines to investigate the regulation of radioresistance in OSCC cells.

Methods: Based on gene expression changes over time in CRR cells and parental lines subjected to irradiation, forkhead box M1 (FOXM1) was selected for further analysis in terms of its expression in OSCC cell lines, including CRR cell lines, and clinical specimens. We suppressed or upregulated the expression of FOXM1 in OSCC cell lines, including CRR cell lines, and examined radiosensitivity, DNA damage, and cell viability under various conditions. The molecular network regulating radiotolerance was also investigated, especially the redox pathway, and the radiosensitizing effect of FOXM1 inhibitors was examined as a potential therapeutic application.

Results: We found that FOXM1 was not expressed in normal human keratinocytes but was expressed in several OSCC cell types. The expression of FOXM1 was upregulated in CRR cells compared with that detected in the parental cell lines. In clinical specimens, FOXM1 expression was upregulated in cells that survived irradiation. FOXM1-specific siRNA treatment increased radiosensitivity, whereas FOXM1 overexpression decreased radiosensitivity, and DNA damage was altered significantly under both conditions as well as the levels of redox-related molecules and reactive oxygen species production. Treatment with the FOXM1 inhibitor thiostrepton had a radiosensitizing effect and overcame radiotolerance in CRR cells.

Conclusions: The FOXM1-mediated regulation of reactive oxygen species could be a novel therapeutic target for the treatment of radioresistant OSCC; thus, treatment strategies targeting this axis might overcome radioresistance in this disease.

学位論文抄録

[目的] 放射線抵抗性は口腔扁平上皮癌(OSCC)克服の大きな課題である。この問題を解決するために、われわれは OSCC 細胞株に通常臨床と同様の 2Gy/day の分割照射を行って樹立した臨床的放射線抵抗性(CRR)細胞株を樹立した。本研究では、OSCC 細胞における放射線抵抗性の制御を調べるために、CRR 細胞とその親株を用いて遺伝子発現解析を行った。

[方法] 照射を行った CRR 細胞と親株の経時的な遺伝子発現変化から、forkhead box M1 (FOXM1)を抽出し、CRR 細胞株を含む OSCC 細胞株および臨床検体における FOXM1 発現を解析した。CRR 細胞株を含む OSCC 細胞株において FOXM1 の発現を抑制あるいは上昇させ、様々な条件下で放射線感受性、DNA 損傷、細胞生存率について検討した。また、放射線耐性を制御する分子ネットワーク、特に酸化還元経路を調べ、治療への応用の可能性として FOXM1 阻害剤の放射線増感効果を検討した。

[結果] FOXM1 は正常なヒト角化細胞では発現していなかったが、いくつかの OSCC 細胞株で発現していた。なかでも CRR 細胞では親株と比較し、FOXM1 の発現が上昇していた。臨床検体では、FOXM1 の発現は放射線照射後に残存または再発した腫瘍検体で上昇していた。また FOXM1 特異的 siRNA 処理は放射線感受性の増強を、FOXM1 の過剰発現は放射線感受性の低下をもたらし、両条件下で DNA 損傷は有意に変化し、レドックス関連分子や活性酸素の生成量と相関していた。また、FOXM1 阻害剤であるチオストレプトンで処理すると、CRR 細胞の放射線感受性の増強がみられた。

[考察] FOXM1 がレドックス関連分子や活性酸素産生を介して OSCC の放射線抵抗性に関与していることが示唆された。また、FOXM1 を標的とすることで放射線増感効果を高め、放射線耐性を解除できる可能性があることが明らかとなった。以上の結果から、FOXM1 を介した活性酸素の制御は放射線抵抗性 OSCC に対する新規治療標的となりうる可能性が示唆された。また放射線照射を繰り返すことで、FOXM1 を恒常的に高発現する細胞が出現し、放射線抵抗性を獲得することが推測された。