

口腔悪性腫瘍における IL-22 の関与

相澤 (小峯) 志保子¹⁾, 相澤聡一^{1), 2), 3)}

A study on oral carcinogenesis and IL-22

Shihoko KOMINE-AIZAWA¹⁾, Sohichi AIZAWA^{1), 2), 3)}

要旨

IL-22は主にCD4陽性T細胞, NK細胞, NKT細胞によって産生されるサイトカインである。近年, IL-22が胃癌や口腔扁平上皮癌の進展・浸潤に関連する可能性が報告されている。我々は以前に口腔扁平上皮癌の前癌状態である境界悪性型上皮異形成症の病変局所において, IL-22産生細胞頻度と異型細胞におけるIL-22レセプター発現が亢進していることを報告した。本研究ではIL-22が口腔悪性腫瘍に与える影響をin vitroの系で検討した。その結果, 口腔癌細胞株ではIL-22による細胞の遊走の促進はみられたものの, 明らかな細胞増殖の増強や浸潤の促進はみられなかった。

1. はじめに

異型細胞や癌細胞の除去や病態の進行にはNK細胞, T細胞をはじめとする免疫担当細胞が関与している。インターロイキン-22(interleukin-22,IL-22)は主にCD4陽性T細胞, NK細胞, NKT細胞によって産生されるサイトカインである。IL-22のレセプターは免疫担当細胞には存在せず, 皮膚, 気道, 腸管などの上皮細胞に発現する¹⁾。IL-22はこれらの上皮細胞から抗菌ペプチドの産生を促進し, 自然免疫系を活性化させる。また, IL-22は表皮角化細胞の増殖を誘導するが, 終末分化を阻害するため乾癬やアトピー性皮膚炎の病態に関わると考えられている²⁾。さらに, STAT3を介しBcl-2の発現を誘導することから, アポトーシス阻害による胃癌や口腔扁平上皮癌の浸潤に関連する可能性が示唆されている³⁻⁵⁾。我々はこれまでに口腔扁平上皮癌の前癌状態である境界悪性型上皮異形成症の病変局所において, IL-22産生細胞頻度と異型細胞におけるIL-22レセプター発現が亢進していることを報告した。本研究ではIL-22が口腔悪性腫瘍の浸潤に与える影響をin vitro

の系で検討した。

2. 対象及び方法

2.1 口腔癌細胞株

口腔癌細胞株Ca9-22とSASをJCRB細胞バンクより分譲を受け, 実験に供した。Ca9-22はminimal essential medium(GIBCO, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)に10%のFetal bovine serumとペニシリン, ストレプトマイシンを加えた培地で培養した。SASはDulbecco's modified Eagle's mediumとHam's F12 mediumを等量で混合し, 10%のFetal bovine serumとペニシリン, ストレプトマイシンを加えた培地で培養した。IL-22受容体の発現をanti-IL-22 receptor antibody (abcam, cambridge, UK)を用いて蛍光染色し, 確認した。

2.2 IL-22

Recombinant human IL-22をR&D systems (Minneapolis, MN, USA)より購入し, 実験に供した。1ng/mLから100ng/mLの濃度で実験に使用した。

1) 日本大学医学部病態病理学系微生物学分野

2) 日本大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学系歯科口腔外科学分野

3) 独立行政法人地域医療機能推進機構横浜中央病院歯科口腔外科
相澤 (小峯) 志保子: aizawa.shihoko@nihon-u.ac.jp

2.3 細胞増殖試験

Cell counting kit-8 (Dojindo, Kumamoto, Japan) を用いて、細胞の増殖試験を行った。

2.4 Migration assay (細胞遊走アッセイ)

Ca9-22を24 wellプレートで培養し、コンフルエントになったところで、Scratch Stick (IWAKI, Tokyo, Japan) を用いてスクラッチし、IL-22を種々の濃度で加え48時間後に細胞の遊走の程度を観察した。

2.5 Invasion assay (細胞浸潤アッセイ)

Corning BioCoat Matrigel Invasion Chamber (Corning, Bedford, MA, USA) を用いてCa9-22の細胞浸潤にIL-22が与える影響を検討した。

3. 結果

3.1 IL-22はCa9-22とSASの細胞増殖に影響を与えない

IL-22無添加群(対照群)とIL-22添加群における細胞増殖の差はみられなかった。

3.2 IL-22はCa9-22の遊走を誘導する

Ca9-22を用いてmigration assayを行った。48時間後に細胞の遊走を観察したところ、IL-22無添加群(対照群)に比較して、IL-22を10ng/mLで添加した群で有意差をもって細胞の遊走が増加した($p < 0.05$) (図1)。

3.3 IL-22はCa9-22の浸潤能を増強する傾向がある

Ca9-22の細胞浸潤能におけるIL-22の影響を検討した。IL-22を10ng/mLで添加した群で対照群に比

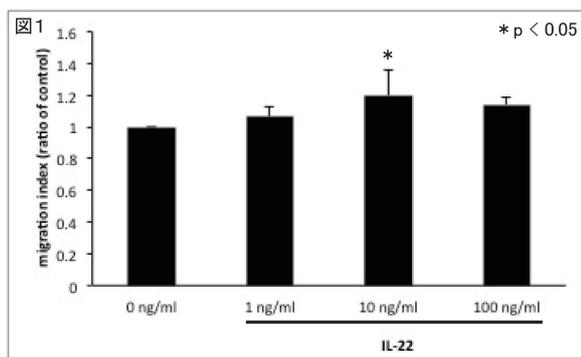


図 1

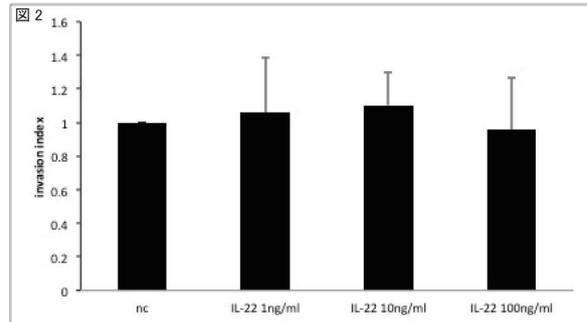


図 2

較して、浸潤能が増強する傾向がみられたが、統計学的有意差は得られなかった(図2)。

4. 考察

我々は口腔扁平上皮癌の前癌状態である境界悪性型上皮異形成症の病変局所において、IL-22産生細胞頻度と異型細胞におけるIL-22レセプター発現が亢進していることを以前に見出しており、IL-22が口腔癌の進展・浸潤に関わる可能性を本研究において検討した。胃癌においては、IL-22がSTAT3, ERKシグナル, AKT, MMP9に依存して癌細胞の浸潤を増強させることが報告されている^{4,5)}。しかし、我々が今回使用した口腔癌細胞株では細胞の遊走の促進はみられたものの、明らかな細胞増殖の増強や浸潤の促進はみられなかった。口腔内には多種多様な細菌が多数存在しており、口腔内の扁平上皮は常に多くの細菌に曝露されている。また、胃癌は腺癌であるが、口腔癌の多くは扁平上皮癌である。従って、細胞のIL-22に対する感受性が異なることが考えられる。

口腔癌は全ての悪性腫瘍の約2.2%の割合を占めており、近年患者数は増加傾向にある。口腔癌の治療法の第一選択は外科的な切除であるが、手術痕による顔貌の変形や摂食・嚥下障害、発語障害などが、手術後の患者のQuality of lifeを大きく低下させる。口腔癌のリスク因子として喫煙やHPV感染があげられる。今後はタバコに含まれるニコチンや、HPVの関連も含めてさらなる検討を進める予定である。

5. 結語

口腔癌細胞株ではIL-22による細胞の遊走の促進はみられたものの、明らかな細胞増殖の増強や浸潤

の促進はみられなかった。

文 献

- 1) Eyerich S, Eyerich K, Pennino D, Carbone T, Nasorri F, Pallotta S, Cianfarani F, Odorisio T, Traidl-Hoffmann C, Behrendt H, Durham SR, Schmidt-Weber CB and Cavani A. Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling. *J Clin Invest.* 2009;119(12):3573-85.
- 2) Fujita H. The role of IL-22 and Th22 cells in human skin diseases. *J Dermatol Sci.* 2013;72(1):3-8.
- 3) Naher L, Kiyoshima T, Kobayashi I, Wada H, Nagata K, Fujiwara H, Ookuma YF, Ozeki S, Nakamura S and Sakai H. STAT3 signal transduction through interleukin-22 in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2012;41(5):1577-86.
- 4) Fukui H, Zhang X, Sun C, Hara K, Kikuchi S, Yamasaki T, Kondo T, Tomita T, Oshima T, Watari J, Imura J, Fujimori T, Sasako M and Miwa H. IL-22 produced by cancer-associated fibroblasts promotes gastric cancer cell invasion via STAT3 and ERK signaling. *Br J Cancer.* 2014;111(4):763-71.
- 5) Ji Y, Yang X, Li J, Lu Z, Li X, Yu J and Li N. IL-22 promotes the migration and invasion of gastric cancer cells via IL-22R1/AKT/MMP-9 signaling. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(7):3694-703.