

平成30年6月21日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10816

研究課題名(和文) 頭頸部癌における低酸素誘導タンパク質の発現と高濃度酸素療法に関する研究

研究課題名(英文) Expression of LOX-1 protein induced by low-oxygen environment and high-concentrated oxygen therapy in head and neck legion

研究代表者

真栄田 裕行 (Maeda, Hiroyuki)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40264501

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌に有効な新規治療法を確立するために、まず分子生化学的手法を用いて、低酸素誘導タンパク質をコードする遺伝子の一つであるロックス1の、癌細胞に及ぼす分子生化学的機序を解明することを挙げた。頭頸部癌細胞株や組織におけるロックス1の発現解析：頭頸部癌細胞株や手術検体の癌組織におけるロックス1の発現を解析した。また悪性腫瘍以外の頭頸部組織におけるロックス1の発現と比較検討した。さらに抗ロックス1抗体を用いて実際の頭頸部癌組織におけるロックス1タンパク質の発現について検討した。ロックス1の発現と患者予後の相関について検討した。

研究成果の概要(英文)：We measured expression of LOX-1 protein in cell-line and specimen of head and neck carcinoma. We compared expression of LOX-1 protein malignant tumor with normal tissue in head and neck legion. Moreover, we examined expression of LOX-1 protein in real tissue of head and neck carcinoma by anti-LOX-1 antibody. We acquired results as follows:

LOX-1 protein expressed in each head and neck organ, especially in oropharynx and tongue, with certain quantity. LOX-1 protein prominent expressed in hypopharyngeal and esophageal carcinoma add to oropharyngeal and tongue cancer. Expression of LOX-1 in malignant tumor was significant higher than normal tissue. Expression of LOX-1 protein in recurrent tumor increased clearly compared with untreated tumor. It was clarified that there is not difference of quantity of expression LOX-1 and CyclinD1. Prognosis of the patient having head and neck carcinoma with high expression of LOX-1 protein was better than those without expression of LOX-1 protein.

研究分野：耳鼻咽喉科 頭頸部腫瘍

キーワード：頭頸部癌 高濃度酸素療法 低酸素誘導タンパク質 発癌モデルラット

1. 研究開始当初の背景

低酸素濃度環境下に誘導される遺伝子のひとつである *Lysyl Oxidase type-1* (以下 **LOX-1**) は頭頸部扁平上皮癌、特に口腔癌や中咽頭癌で高頻度に発現していることが分かっている。しかしその癌増殖あるいは癌抑制における分子レベルでのメカニズム、さらには臨床面においての役割や意義については未だ不明の点が多い。本研究は最終的にはLOX-1の臨床応用を目指している。まず癌化あるいは発癌抑制に関わるLOX-1のヒト細胞内での分子動態を明らかにすることで、LOX-1が局所再発やリンパ節転移の予測因子になり得ることを証明する。それにより予後予測に有効な分子マーカーが構築されることが期待できる。

2. 研究の目的

本研究はLOX-1の発癌あるいは癌抑制に関する分子レベルでのメカニズムを解明することによりLOX-1の臨床応用を目指して遂行されるが、最終的には頭頸部癌に有効な新規治療方法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

平成26年度までに終了していること

1. ヒトLOX-1のcDNAクローニング
2. 各種発現ベクターの構築
3. LOX-1に対する抗体の作製
4. 舌癌モデルラットの作成

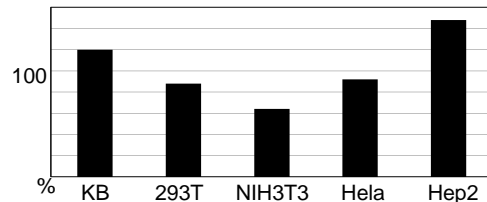
平成27-29年度までに行われたこと

1. 頭頸部癌細胞株および頭頸部癌組織におけるLOX-1、P53、cyclinD1の発現解析
 頭頸部癌細胞株(Hep2細胞、KB細胞)や生検材料、手術検体の癌組織におけるLOX-1の発現を解析した。また悪性腫瘍以外の頭頸部組織におけるLOX-1の発現と比較検討した。さらに抗LOX-1抗体を用いてパラフィ

ン固定されたヒト頭頸部癌の免疫組織染色を施行し、実際の頭頸部癌組織におけるLOX-1タンパク質の発現について検討した。

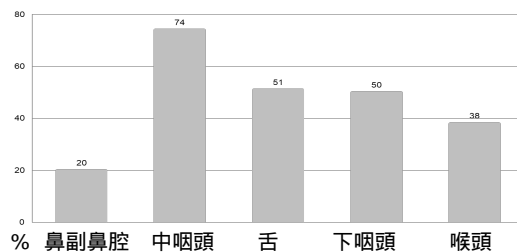
2. LOX-1発現の有無による頭頸部癌患者の予後について
 手術検体を用いてLOX-1の発現と患者予後の相関について検討した。

4. 研究成果



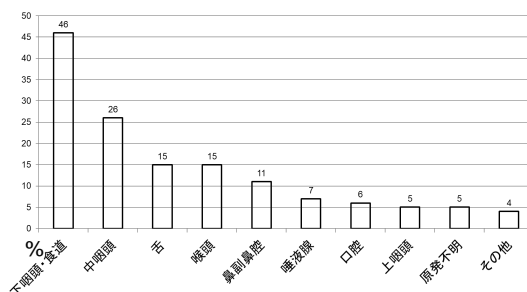
細胞株におけるLOX-1の発現:

KB細胞を100として表す。頭頸部癌細胞株であるKB細胞やHep2細胞で発現が亢進している。



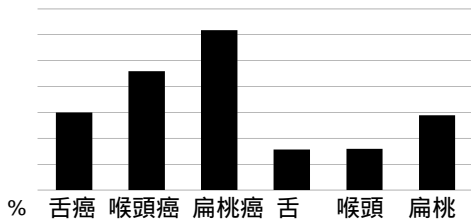
正常組織におけるLOX-1の発現:

中咽頭組織に高発現しているが、舌や下咽頭における発現も比較的高い。



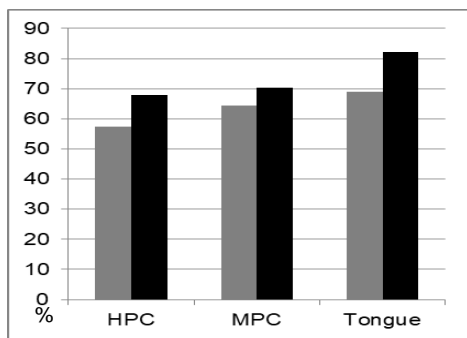
腫瘍組織におけるLOX-1の発現:

下咽頭癌および頸部食道癌における発現が高い。中咽頭癌や舌癌においても高発現が見られる。



正常組織と腫瘍組織におけるLOX-1の発現の比較：

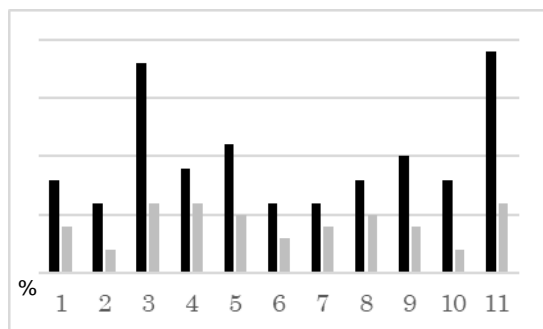
舌、喉頭、扁桃のいずれにおいても腫瘍組織におけるLOX-1の発現が亢進している。



Primary Tumor
 Recurrent Tumor

未治療の癌と再発癌におけるLOX-1発現の比較：

再発癌においてLOX-1の発現が亢進している。



LOX-1とcyclinD1の共発現：

数字はロット番号を表す。LOX-1とCyclinD1の発現量に明らかな相関はない。

CyclinD1

LOX-1の発現している頭頸部癌はLOX-1の発現していない頭頸部癌に比べ予後が良い傾向にあった（有意差なし）。

現段階で判明している結果として、

- (1) LOX-1 は頭頸部の各臓器で一定量発現しており、中咽頭や舌に特に高発現していた。
- (2) 頭頸部癌組織においては中咽頭癌や舌癌に加え、下咽頭・頸部食道癌においても LOX-1 の著しい発現亢進が見られた。
- (3) 正常組織に比し、腫瘍組織における LOX-1 の発現が有意に高かった。
- (4) 再発頭頸部癌組織においては LOX-1 の発現は明らかに増加していることが判明した。
- (5) LOX-1 と CyclinD1 の発現量に明らかな相関は認められなかった。
- (6) LOX-1 の発現している頭頸部癌は LOX-1 の発現していない頭頸部癌に比べ予後が良い傾向にあった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 15 件)

1. 真栄田裕行, 仲宗根和究, 又吉宣, 安慶名信也, 上里迅, 金城秀俊, 饒波正史, 鈴木幹男: 中咽頭に発生した高悪性度粘表皮癌の治療例. 耳鼻 63(5): 157-164, 2017. 査読あり
2. Maeda H.: Trends in the treatment of head and neck malignancies in the Okinawa Prefecture. Ryukyu Med J 36(1,2): 17-24, 2017. 査読あり
3. 真栄田 裕行, 鈴木 幹男, 他: 甲状腺未分化癌の経過 - 個別化治療指針の妥当性 -. 日気食会報 68(6): 396-402, 2017. 査読あり
4. Deng Z., Maeda H., Suzuki M., et al: Methylation of CpG Sites in the

- Upstream Regulatory Region, Physical Status and mRNA Expression of HPV-6 in Adult-Onset Laryngeal Papilloma. *Oncotarget* 8(49): 85368-85377, 2017. 査読あり
5. Maeda H., Suzuki M., et al: Lymphoepithelial carcinoma in parotid gland related to EBV infection. *Auris Nasus Larynx* 27(1): 170-174, 2017. 査読あり
 6. Maeda H.: How to Treat Sweat Gland Adenocarcinoma of the Eyelid. *Head Neck Cancer Res* 2: 1-4, 2017. 査読あり。
 7. Ganaha A., Maeda H., Suzuki M., et al: Suprameatal Cochlear Implantation in a CHARGE Patient With a Novel CHD7 Variant and KALLMANN Syndrome Phenotype: A Case Report. *Otol Neurotol*. 38(7): 990-995, 2017. 査読あり
 8. Kiyuna A., Maeda H., Suzuki M., et al: Brain Activity in Patients With Adductor Spasmodic Dysphonia Detected by Functional Magnetic Resonance Imaging. *J Voice*. 31(3): 379-381, 2017. 査読あり
 9. Maeda H., Suzuki M., et al: Branchiogenic carcinoma with high risk type human papillomavirus infection. *Oncology letters* 12: 2087-2091, 2016. 査読あり
 10. 真栄田裕行, 當山昌那, 安慶名信也, 又吉宣, 鈴木幹男: 副咽頭間隙に発生した海綿状血管腫の1手術例. *頭頸部外科* 26(1): 109-113, 2016
 11. Yamashiro K., Maeda H., Suzuki M., Murayama S., et al: Maxillary Cancer with Metastasis to the Rouviere Nodes - Complete Response to Chemoradiotherapy Using a Selective Intra-Arterial Infusion Technique. *Gan To Kagaku Ryoho*. 43(2): 243-246, 2016. 査読あり
 12. Yamashita Y., Maeda H., Suzuki M., et al: Squamous cell carcinoma antigen as a diagnostic marker of nasal inverted papilloma. *Am J Rhinol Allergy*. 30(2): 122-127, 2016. 査読あり
 13. 真栄田裕行: 頸部郭清術のメルクマール - これから頸部郭清を始める頭頸部外科医のために - . *耳鼻臨床* 109(9): 672-673, 2016. 査読あり
 14. Yamashita Y., Maeda H., Suzuki M., et al: Human papillomavirus infection and immunohistochemical expression of cell cycle proteins pRb, p53, and p16(INK4a) in sinonasal diseases. *Infect Agent Cancer*. doi: 10.1186/s13027-015-0019-8. eCollection, 2015. 査読あり
 15. 真栄田裕行, 鈴木幹男, 他: 当科における下咽頭・頸部食道癌治療の妥当性に関する検討. *口咽科* 28(2): 165-170, 2015. 査読あり
- 〔学会発表〕(計 7 件)
1. Maeda H., Terukina R, Noha M, Kinjo H, Uezato J, Agena S, Matayoshi S, Suzuki M: A case of metastasis of anaplastic thyroid carcinoma to cardiovascular system. 2017/11/02, Okinawa, 2th Congress of Asia-Pacific Society of Thyroid Surgery
 2. Maeda H., Terukina R, Noha M, Kinjo H, Uezato J, Agena S, Matayoshi S, Suzuki M: Right ventricular outflow obstruction induced by tumor embolus of anaplastic thyroid carcinoma. 2017/07/28, Boston, 3rd World Congress on Thyroid Cancer
 3. Maeda H., Uehara T, Agena S,

- Matayoshi S, Yamashita Y, Hirakawa H, Suzuki M: The therapeutic experiment of HER2 -positive recurrent salivary duct carcinoma by molecular gene target drug with irradiation. 2016/10/07, Athene, 21st World Congress on Advances in Oncology and 19th International Symposium on Molecular Medicine
4. Maeda H, Agena S, Matayoshi S, Yamashiro T, Uehara T, Yamashita Y, Hirakawa H, Suzuki M: Several examinations concerning unknown primary origin tumors in our institution. 2016/03/29, Tokyo, 16th Joint Meeting of Otorhinolaryngology -Head and Neck Surgery,
 5. Maeda H, Agena S, Kise N, Suzuki M: A study regarding to possibility of merger adenomatous goiter with follicular thyroid carcinoma. 2015/11/20, Korea, 1th Congress of Asia-Pacific Society of Thyroid Surgery
 6. Maeda H, Hasegawa M, Yamashita Y, Kiyuna A, Agena S, Uehara T, Suzuki M: Prognosis of the Lymphoepithelial Carcinoma in Head and Neck region. 2015/06/05, Kobe, 4th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology
 7. Maeda H, Hasegawa M, Yamashita Y, Agena S, Kiyuna A, Suzuki M: Prognoses of the hypopharyngeal and cervical esophageal squamous cell carcinoma after treatment by operation or CCRT. 2015/04/15, Kyoto, 18th World Congress for Bronchoesophagology

{ 図書 } (計 0 件)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

真栄田 裕行 (MAEDA, Hiroyuki)
琉球大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号 : 40264501