

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10817

研究課題名(和文) 頭頸部がんにおけるタイト結合関連分子JAM-Aを用いた補助診断および分子標的治療

研究課題名(英文) Auxiliary diagnosis and molecular targeted therapy by tight junction related molecule JAM-A in head and neck cancer

研究代表者

黒瀬 誠 (MAKOTO, KUROSE)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：60404696

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)：頭頸部扁平上皮がん(HNSCC)でのタイト結合関連分子JAM-Aを解析した。HNSCCでは、悪性度の増加に伴いJAM-A発現の亢進がみられた。ELISA法を用いてHNSCC患者の血清中のJAM-Aを測定すると正常より高い傾向がみられた。JAM-Aを高発現している癌細胞株を解析したところ、JAM-Aが転写因子であるp63/GATA-3に依存して高発現していた。HNSCCで発現亢進しているヒストン脱アセチル化酵素を阻害したところ、p63の低下、JAM-Aの発現低下、がん細胞の浸潤・遊走抑制がみられた。JAM-AはHNSCCで診断・分子標的治療のターゲットになりうると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we investigated the possibility about auxiliary diagnosis and targeted therapy of squamous cell carcinomas in head and neck cancer by tight junction related molecule JAM-A. We found high expression of JAM-A at the protein and mRNA levels in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) tissue. Soluble JAM-A in serum of HNSCC patients was high level compared to the normal. Overexpression of JAM-A in HNSCC cell line Detroit562 was in part regulated via p63/GATA-3. We used inhibitors of histone deacetylase (HDAC). By using HNSCC cell line Detroit562, treatment with a panHDAC inhibitor tricostatin A (TSA) or specific inhibitors of HDAC1 and HDAC6 prevented the invasion, migration and proliferation of cancer cells in vitro. Furthermore, they also inhibited expression of p63 and JAM-A in Detroit562 cells. Taken together, inhibitors of HDAC are available in possible about auxiliary diagnosis and molecular targeted therapy for HNSCC via p63/JAM-A.

研究分野：頭頸部外科

キーワード：Head and neck cancer squamous cell carcinomas JAM-A p63/GATA-3 HDAC malignancy

1. 研究開始当初の背景

頭頸部扁平上皮癌は比較的稀であるが、近年増加傾向にある。進行状態で発見されることが多く、一般的に予後不良な疾患である。疾患の早期発見や新たな治療方法の開発が望まれて久しい。最近、乳癌や食道扁平上皮癌でタイト結合関連分子であるJAM-Aの高発現が報告されており、癌の浸潤・転移を亢進させる因子と考えられている。さらに、ヒストン脱アセチル化酵素(Histone Deacetylase: HDAC)阻害剤は、ヒストンアセチル化を亢進し、抗腫瘍効果を示すことが報告されている。頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)においてもHDAC高発現がみられ、HDAC阻害剤の抗腫瘍効果は知られているが、その作用メカニズムは不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、頭頸部扁平上皮癌におけるJAM-Aを用いた補助診断および分子標的治療の可能性を明らかにすることである。そのために、悪性化におけるJAM-Aの発現を-cateninと比較検討し、p63経路に焦点を当て発現調節メカニズムを解明する。さらに頭頸部扁平上皮癌におけるHDAC阻害剤の抗腫瘍効果メカニズムを癌細胞の浸潤および遊走に密接な関与がみられるp63依存性タイト結合分子であるJAM-Aに焦点を当て解析した。最終的には、血清JAM-A測定による補助診断、p63/JAM-Aをターゲットとした分子標的治療の基礎的研究を実施する。

3. 研究の方法

1) ヒト剖検材料を用いて前癌病変を含め頭頸部扁平上皮癌におけるJAM-Aの発現および局在の変化を形態学的悪性度(EMTマーカー:Snail,ZEB, Twist)とともに比較検討する。次に、そのJAM-Aの発現変化をp63(TAp63, deltaNp63)および-cateninの発現変化と比較検討する。さらに、癌患者の血清中のJAM-Aを測定し、健常人および術前術後を比較検討する。

2) 癌細胞のJAM-Aの高発現の確認および発現調節機構の解明のために、頭頸部扁平上皮癌の手術材料より継代可能な初代培養癌細胞を分離培養する。

3) 頭頸部扁平上皮癌におけるJAM-Aの高発現のメカニズム解析のために、癌細胞株(Detroit562)および初代培養癌細胞を用いてp63経路に焦点を絞りsiRNAを処置し、JAM-Aの発現変化をみる。

4) 頭頸部扁平上皮癌において発現が亢進しているヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)に焦点を当て、HDAC阻害剤(汎HDAC阻害剤であるtricostatin A, HDAC1特異的阻害剤、HDAC6特異的阻害剤)を処置し、p63およびJAM-Aの発現変化、癌細胞の浸潤・遊走の変化を調べ

る。

5) HDAC阻害剤処置においては癌細胞の増殖の変化も調べる。

4. 研究成果

1) 頭頸部扁平上皮癌組織の免疫染色において、全てのp63陽性の癌細胞において-catenin同様にJAM-Aの高発現がみられた。さらに、real-time PCR測定により癌組織の著しいJAM-A mRNAの亢進が認められた。

2) 癌患者の血清中のJAM-Aを測定した結果、健常人に比較して明らかに高値であった。術前術後においては、抑制傾向が認められた。

3) 癌細胞株および初代培養癌細胞にp63のsiRNAを処置した結果、p63の発現低下とともにJAM-Aの発現低下がみられた。

4) 癌細胞株および初代培養癌細胞に汎HDAC阻害剤であるtricostatin A, HDAC1特異的阻害剤を処置した結果、p63およびJAM-Aの発現低下がみられ、癌細胞株の浸潤・遊走能は明らかに抑制された。

5) 癌細胞株に汎HDAC阻害剤であるtricostatin Aを処置した結果、癌細胞の細胞周期の変化を介した増殖抑制がみられた。この変化の一部は、p63を介してEGFR/ERK経路で調節されていた。

以上のことにより、頭頸部扁平上皮癌においてp63依存性のJAM-Aは癌の悪性化に関与し、可溶性JAM-Aが、血清中測定可能なことより癌の補助診断となる可能性が考えられた。さらに頭頸部扁平上皮癌におけるHDAC阻害剤の抗腫瘍効果は、癌細胞の遊走・浸潤に関しては一部p63/JAM-Aの抑制を介して、癌細胞の増殖抑制に関してはEGFR/ERK経路を介して行われていることが分かった。

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4件)

1. Takano K, Kakuki T, Obata K, Nomura K,

Miyata R, Kondo A, Kurose M, Kakiuch A,

Kaneko Y, Kohno T, Himi T, Kojima T. The

behavior and role of lipolysis-stimulated

lipoprotein receptor, a component of tricellular

tight junctions, in head and neck squamous cell

carcinomas. Anticancer Research 2016

36:5895-5904. 査読有

2. Kurose M, Kakuki T, Takano K, Kondo A,

Obata K, Nomura K, Miyata R, Kaneko Y, Konno T, Kohno T, Kojima T, Himi T. Junctional Adhesion Molecule-A in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Adv. 査読有 Otorhinolaryngol. 2016 77:92-97.

3. Kakuki T, Kurose M, Takano K, Kondo A, Obata K, Nomura K, Miyata R, Kaneko Y, Konno T, Takahashi S, Hatakeyama T, Kohno T, Himi T, Kojima T. Dysregulation of junctional adhesion molecule-A via p63/GATA-3 in head and neck squamous cell carcinoma. Oncotarget 2016 Mar 28. 査読有

4. Kojima T, Kohno T, Kubo T, Kaneko Y, Kakuki T, Kakiuchi A, Kurose M, Takano KI, Ogasawara N, Obata K, Nomura K, Miyata R, Konno T, Ichimiya S, Himi T. Regulation of claudin-4 via p63 in human epithelial cells. Ann N Y Acad Sci. 2017 Aug 30. 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 角木拓也、黒瀬誠、高野賢一、近藤敦、小幡和史、野村一顕、宮田遼、金野匠、高橋俊太、畠山翔翼、幸野貴幸、氷見徹夫、小島隆 頭頸部扁平上皮癌における p63/GATA-3 経路を介したタイト結合分子 JAM-A の発現調節機構 第 67 回日本細胞生物学会 6 月 2015 年

2. 垣内晃人、角木拓也、高野賢一、金子躍人、黒瀬誠、近藤敦、幸野貴之、氷見徹夫、小島隆 「頭頸部扁平上皮癌における 3 細胞間タイト結合分子 LSR の発現」2016 年 10 月 第 48 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会

3. Yakuto Kaneko, Takuya Kakuki, Makoto Kurose, Ken-ichi Takano, Takayuki Kohno, Tetsuo Himi, Takashi Kojima Dysregulation of junctional adhesion molecule-A via p63/GATA-3 in head and neck squamous cell carcinoma. Tight junctions and their proteins Sep 2016, Berlin

4. 垣内晃人、角木拓也、黒瀬誠、高野賢一、

近藤敦、小幡和史、野村一顕、宮田亮、金子躍人、幸野貴之、氷見徹夫、小島隆 頭頸部扁平上皮癌におけるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤の p63 依存性タイト結合分子を介した抗腫瘍効果

第 68 回日本細胞生物学会 6 月 13-15 日 2017 年

5. 垣内晃人、角木拓也、黒瀬誠、高野賢一、近藤敦、小幡和史、野村一顕、宮田遼、金子躍人、氷見徹夫、小島隆 ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害による頭頸部扁平上皮癌タイト結合分子の変化と抗腫瘍効果 2017 年生命科学系学会合同年次大会 12 月 6-9 日

6. Kurose M: The behavior and role of tricellular tight junction protein lipolysis-stimulated lipoprotein receptor in head and neck squamous cell carcinomas. 5th Congress of Asian Society for head and Neck Oncology, 平成 29 年 3 月 23-25 日、バリ(インドネシア)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者

黒瀬 誠 (Makoto Kurose)
札幌医科大学・耳鼻咽喉科・講師
研究者番号： 60404696

(2)研究分担者

高野 賢一 (Kenichi Takano)
札幌医科大学・耳鼻咽喉科・准教授
研究者番号： 70404689

(3)連携研究者

()

研究者番号：