

令和元年6月27日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11316

研究課題名(和文)新規樹立したSnail高発現OSCC細胞株を用いた間葉上皮転換機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of mesenchymal-epithelial transition mechanism using newly established Snail highly expressing OSCC cell line

研究代表者

久米 健一 (Kume, Kenichi)

鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教

研究者番号：60650067

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌患者の生存率を左右するのは遠隔臓器への転移である。in vitroの実験系では上皮の性質を持つ細胞にSnail遺伝子を導入し、高発現させると遊走能が上昇することが報告されている。今回われわれは口腔癌細胞株であるHSC-4細胞株に恒常的にSnailを高発現するSnail/HSC-4細胞を作製し、ヌードマウスの舌へ移植した。しかしながら原発巣の形成を認められるものの、転移巣の形成は認められず、Snailが発現するのみでは癌細胞の転移は起こらず、他の因子の働きが必要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前述のように口腔癌患者の生存率を左右するのは遠隔臓器への転移の有無であり、in vitroの実験では遊走能を持たない上皮系の細胞でもSnailの発現が増加することで遊走能を獲得するという報告がある。癌細胞が原発巣から遠隔臓器へ転移するには、上皮間葉転換(EMT)という変化を起こし、血管やリンパ管内に侵入し、遠隔臓器に定着する場合には、間葉上皮転換(MET)という過程を経ると考えられている。今回、Snailを高発現している口腔癌細胞株を作製し、移植実験を行ったが、転移巣は形成されなかった。よって癌の転移にはSnailだけでなく様々な因子が関与していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is the metastasis to distant organs that affects the survival rate of oral cancer patients. It has been reported in in vitro experiments that the migration ability is increased by introducing the Snail gene into cells having epithelial properties. Here, we generated Snail / HSC-4 cells that constitutively express Snail in HSC-4 cell line, which is an oral cancer cell line, and transplanted to the tongue of nude mice. However, although the formation of primary foci was observed, the formation of metastatic foci was not observed, suggesting that Snail expression alone does not cause metastasis of cancer cells, and the function of other factors is necessary.

研究分野：口腔癌

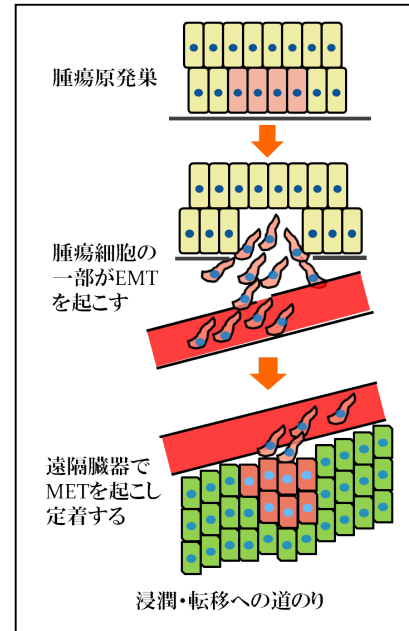
キーワード：口腔癌 EMT MET

### 1. 研究開始当初の背景

近年口腔癌患者の治療成績は向上しているが、その生存率を最も大きく左右するのは遠隔臓器への転移の有無である。しかしながら口腔癌の転移については詳細なメカニズムは不明であり、メカニズムを解析することは患者の生命予後の伸長につながると考えられる。

### 2. 研究の目的

近年口腔癌患者の治療成績は向上しているが、その生存率を最も大きく左右するのは遠隔臓器への転移の有無である。一連の転移は EMT (上皮間葉転換) を起こした腫瘍細胞が原発巣から逸脱し、血管・リンパ管などを通路として、遠隔臓器に辿り着くと今度は MET (間葉上皮転換) という逆の経路を通して腫瘍塊を形成すると考えられている。EMT は転写因子 Snail が中心となり細胞接着分子である E-cadherin や desmoglein などの発現を抑制することが知られているが、MET についてはその詳細なメカニズムは解明されていない。申請者は安定的に Snail を発現する口腔扁平上皮癌 (OSCC) 細胞株を樹立しており、本研究ではこの細胞株を実験動物に移植、形成された原発巣と新たに作られる転移巣の細胞に対する網羅的解析の比較を通じて、腫瘍細胞の遠隔臓器への転移という一連のメカニズムの解明し、新規の分子標的治療の開発を目的とする。



### 3. 研究の方法

#### OSCC 細胞への Snail 遺伝子導入

HA タグのついたヒト Snail 遺伝子を含むプラスミドをリン酸カルシウム法にて HSC-4 細胞に導入し EMT が起こっていることを確認している。

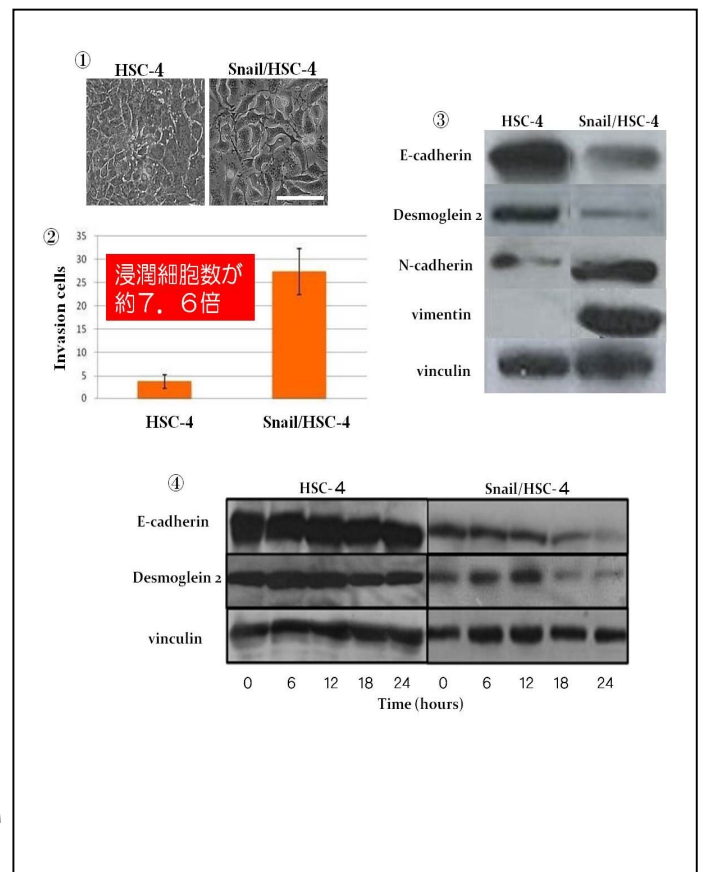
左図は OSCC 細胞株と Snail 導入細胞の形態比較で Snail/HSC-4 細胞では間葉系形態を呈している。

は invasion assay の結果。

Snail/HSC-4 細胞は浸潤能が亢進している。

は Snail/HSC-4 細胞では、上皮系マーカーの発現低下と間葉系マーカーの発現上昇が見られる。

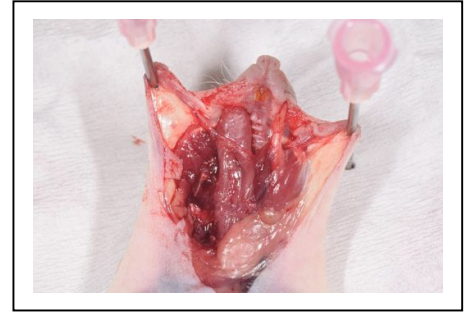
は上皮系マーカーの発現低下に加えて、これらの分解の亢進を認める。



HSC-4 および Snail 発現 OSCC 細胞である Snail/HSC-4 をヌードマウスの舌にそれぞれ移植し、造腫瘍効果、腫瘍性状、周囲組織への浸潤度の分析を行い、EMT を起こしていない細胞と起こしている細胞との間で生体内でどのような変化が起こっているかを比較する。さらに Snail/HSC-4 移植マウスでは先に形成された原発巣と頸部リンパ節などに新たに形成された転移巣から取り出した腫瘍細胞について発現タンパクを網羅的に比較し MET マーカーを探索する。動物実験から得られたデータを用い、実際の患者検体を使用して、転移をおこしていない症例と転移が見られた症例とに対して免疫組織化学などで比較を行い、実際の臨床においても MET マーカーが有用であることを確認する。

#### 4. 研究成果

口腔癌細胞株である HSC-4 細胞株に恒常的に Snail を高発現する Snail/HSC-4 細胞を作製し、ヌードマウスの舌へ移植した。しかしながら原発巣の形成を認められるものの、転移巣の形成は認められず、Snail が発現するのみでは癌細胞の転移は起こらず、他の因子の働きが必要であることが示唆された。



#### 5. 主な発表論文等

なし

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：

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：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究分担者

研究分担者氏名：中村 典史

ローマ字氏名：Nakamura Norifumi

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯(薬)学総合研究科

職名：教授

研究者番号(8桁): 60217875

研究分担者氏名：吉村 卓也

ローマ字氏名：Yoshimura Takuya

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医学部歯学部付属病院

職名：医員

研究者番号（8桁）：30726758

研究分担者氏名：比地岡 浩志

ローマ字氏名：Hijioka Horoshi

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医学部歯学部附属病院

職名：講師

研究者番号（8桁）：70305150

研究分担者氏名：石田 喬之

ローマ字氏名：Ishida Takayuki

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医学部歯学部附属病院

職名：助教

研究者番号（8桁）：20404501

研究分担者氏名：小澤 政之

ローマ字氏名：Ozawa Masayuki

所属研究機関名：鹿児島大学

部局名：医歯（薬）学総合研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：90136854

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。