

平成 29 年 5 月 24 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20537

研究課題名(和文) 腺様嚢胞癌の血行性転移における時空間制御機構の解明

研究課題名(英文) Spatiotemporal Regulation of Adenoid Cystic Carcinoma Metastasis

研究代表者

村瀬 隆一 (MURASE, RYUICHI)

愛媛大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70452696

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：癌は原発巣から離れて転移巣を形成するまでの間に分子レベルで大きな変化があると考えられている。頭頸部領域で高率に血行性転移を生じる腺様嚢胞癌の分子機構の解明を目指した。本研究では、過去に扁平上皮癌で明らかにされた可逆的な上皮間葉移行の現象は確認できなかったが、いくつかのRNA群では原発巣、循環血中、転移巣のそれぞれの段階で発現に変動があった。腺癌は扁平上皮癌とは異なるメカニズムで転移巣を形成している可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：During metastasis, dynamic molecular change is potentially implicated in cancer cells. We focused on the spatiotemporal regulation of adenoid cystic carcinoma (ACC) metastasis. Unlike squamous cell carcinoma, reversible epithelial-mesenchymal transition was not observed in ACC, while several RNAs expressed transiently. This result may indicate that a specific molecular mechanism is essential for disseminated ACC cells to proliferate and form metastases.

研究分野：口腔腫瘍

キーワード：時空間制御機構

1. 研究開始当初の背景

近年、医療技術の進歩から切除可能な口腔がんの治療成績は改善傾向にあるが、局所進行がんや遠隔転移症例に対する治療成績は必ずしも満足できるものではなく、更なる改善が必要である。とりわけ唾液腺癌は高率に血行性転移し、肺や骨髄に遠隔転移巣を形成する傾向が強い。原発巣の制御は可能であっても、転移巣の増大で死に至るケースが数多く見られる。腺様嚢胞癌は唾液腺癌の中で最も頻度の高い組織型の一つであり、一般的に増殖活性は低いものの肺や骨髄などへ遠隔転移を起こす率が高い。化学療法や放射線療法の奏功率が低いため、転移例に対しては有効な治療法がないのが現状である。

2. 研究の目的

腺様嚢胞癌は緩徐に増大する腫瘍でありながら、周囲組織への浸潤能が高く、高率に血行性転移することが特徴である。このため原発巣の制御が可能であっても、肺転移の進行を抑止できず死に至る症例が多々見られる。本研究は腺様嚢胞癌の浸潤、転移能に着目し、細胞が原発巣を離脱してから転移巣を形成するまでの時空間的分子動態の解明を目的とする。特に転移の過程で惹起される可逆的上皮間葉移行のメカニズムを示し、それらに関わる転写因子群の発現調節を明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

- 1) 腺様嚢胞癌細胞移植マウスを用いて、原発腫瘍、血液循環腫瘍細胞、転移巣における転写因子 Id および Twist-1 発現プロファイルを比較する。
- 2) Id 発現を制御し、かつ蛍光色素標識した腺様嚢胞癌細胞を用いて、肺微小血管内における細胞動態の評価を行う。
- 3) 腺様嚢胞癌における可逆的上皮間葉移

行の有無を遺伝子組み換えマウスを用いて評価する。

- 4) 腺様嚢胞癌患者における原発腫瘍細胞と血液循環細胞の転写因子発現を解析し、臨床所見と比較検討する。転移巣からの組織採取が可能な症例については、転移細胞も解析の対象とする。

4. 研究成果

本研究では、当初下図に示す如く腺様嚢胞癌 (ACC) 細胞株を用いて同所移植モデルを作成し、原発巣、循環血中、転移巣からそれぞれ腫瘍細胞をサンプリングすることを予定していた (図 1) が、転移を形成する前段階で致死的経過を辿ったため、尾静脈を介する人工転移モデルに切り替えて検討を行った。

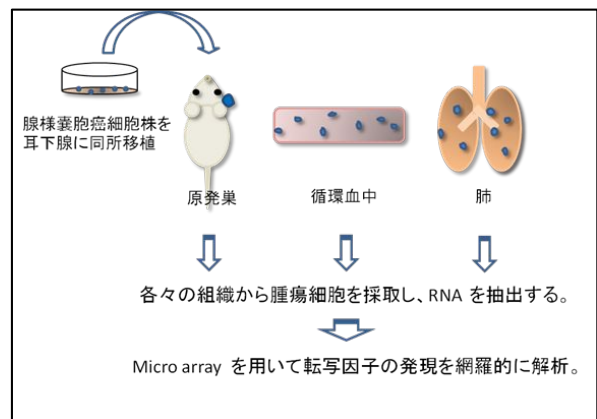


図 1: 腺様嚢胞癌同所移植モデルのシエーマ

人工転移モデルで形成した肺転移巣から細胞を採取して micro array 解析を行い、移植前の細胞と比較した結果、Id-1 ~ 4、Twist-1 などの転移調節因子に発現の変化は見られなかった (図 2)。しかしながら、これらの因子を knock down した細胞では転移巣の形成を有意に低下させ、かつ過剰発現させることで転移巣の数を増加させるという結果を得た (図 3)。これらの現象は免疫組織染色でも確認され、癌細胞の転移能獲得に Id や Twist-1 などの転写調節因子が関与している

ことが示された。

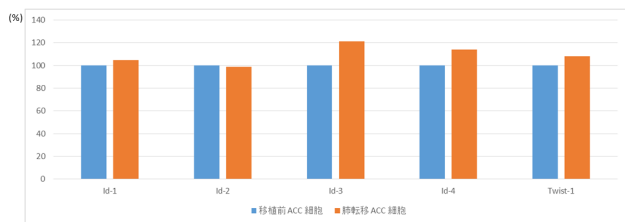


図 2: 移植前後における ACC 細胞の転写調節因子発現の推移

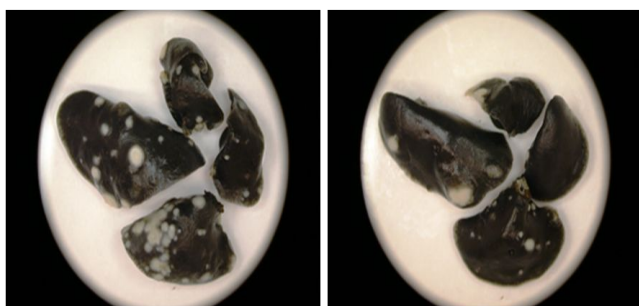


図 3: 転写調節因子 Id-1 の発現抑制により生じる肺転移巣の減少 (左; ACC mock 細胞、右; ACC Id-1 shRNA 細胞)

原発巣から血管内に流入する extravasation の解析は動物実験では行うことができなかったが、患者検体を用いて原発巣、血管内、転移巣の癌細胞をそれぞれ採取して RNA 発現の解析を行った。全てのサンプルを採取できた被検者の数は 3 名にとどまったが、今回評価した転写調節因子の発現は全段階で大きな変動はなく、事前に想定していた癌細胞の形質変化は本研究では認められなかった(図 4)。しかし本研究は症例数が少なく、かつ一部変動が見られた RNA 群も存在していたため、今後さらに症例を集積してから再度検討する予定である。

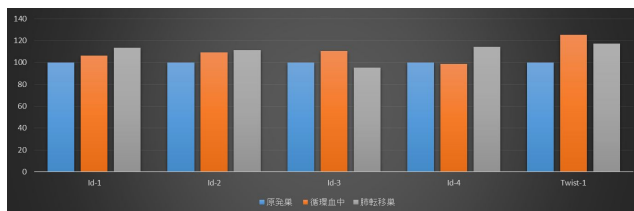


図 4: 原発巣、循環血中、転移巣から採取した腺様嚢胞癌患者検体を用いた転写調節因子の発現推移 (代表検体)

原発巣から転移を形成するまでに可逆的な上皮間葉移行が見られる現象(時空間制御機構)は、扁平上皮癌では一部確認されているが腺様嚢胞癌では未知である。一般的には扁平上皮癌より腺癌の方が血行性転移を生じる傾向が強く、背景には未知の分子機構が存在していると思われる。本研究では解明できなかったが、今後は次世代シーケンスの技術を用いて網羅的に解析することを視野に入れている。

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 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

村瀬 隆一（Murase , Ryuichi）

愛媛大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70452696