

令和元年6月17日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11736

研究課題名(和文) 多段階癌抑制分子CXCL14/BRAKの癌幹細胞を標的とした頭頸部癌抑制戦略

研究課題名(英文) Head and neck cancer suppression strategy targeting cancer stem cells of multistep tumor suppressor molecule CXCL14 / BRAK

研究代表者

居作 和人 (Izukuri, Kazuhito)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：90257296

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)： 癌は未分化なものほど悪性が高く予後が悪く、分化度が高いものほど悪性度は低い。種々のレベルのCXCL14を発現する口腔癌細胞(HSC-3、CXCL14をノックアウトした細胞、及びCXCL14遺伝子を導入し強制発現させた細胞)を用いて、癌幹細胞マーカー(CD44v3,6,10v)の遺伝子レベルでの発現をReal-Time PCRにて測定した結果、癌細胞と癌細胞にCXCL14遺伝子を導入し強制発現させた細胞における癌幹細胞マーカー(CD44v3,6,10v)の遺伝子レベルを比較すると、有意差をもって遺伝子発現が低下していた。CXCL14が癌(幹)細胞の分化を促進する事が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌は未分化なものほど悪性が高く予後が悪く、分化度が高いものほど悪性度は低い。癌幹細胞は既存の抗癌剤などに対して高い抵抗性をもっており、癌幹細胞の存在が治療後に癌が再発・転移する原因となっている可能性がある。本研究の結果により、CXCL14が癌(幹)細胞の分化を促進する事が示唆された。つまり、CXCL14によって、一部の癌細胞は、分化度の高い、悪性度の低い癌細胞に分化することが考えられ、副作用のない癌の治療法の開発につながっていくことが考えられる。

研究成果の概要(英文)： Undifferentiated cancers have high malignancy and poor prognosis, and those with high differentiation have low malignancy. Genes of cancer stem cell markers (CD44v3,6,10v) using oral cancer cells expressing various levels of CXCL14 (cells in which HSC-3, CXCL14 were knocked out, and cells into which the CXCL14 gene was introduced and forcedly expressed) were used. The level of expression was measured by Real-Time PCR, and the gene levels of cancer stem cell markers (CD44v3, 6 and 10v) in cancer cells and cells forcibly introduced with the CXCL14 gene were compared with each other. The difference was that gene expression was reduced. It was suggested that CXCL14 promotes differentiation of cancer (stem) cells.

研究分野：口腔生化学

キーワード：癌抑制 癌幹細胞 CXCL14

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

副作用のない癌の治療法の開発を目的として研究を行い、我々の身体に存在するケモカイン CXCL14 が癌増殖抑制分子である事を見出した。この結果はヒトの口腔癌における CXCL14 の発現低下と一致する。癌は多段階の変異によって進展すると考えられているが、CXCL14 を過剰発現するトランスジェニック(Tg)マウスは意外にも発癌、移植癌の増殖、転移のすべての段階を抑制する事が明らかになった。CXCL14 の癌抑制機構の研究中に CXCL14 が癌細胞の分化を促進している可能性を明らかにした。

#### 2. 研究の目的

副作用のない癌の治療法の開発を目的として研究を行い、我々の身体に存在するケモカイン CXCL14 が癌増殖抑制分子である事を見出した。CXCL14 が口腔癌幹細胞の分化を促進して腫瘍の増殖を抑制する機構を細胞培養系 (*in vitro*) と、マウスへの癌細胞の移植系 (*in vivo*) をもちいて明らかにすることを目的とする。

#### 3. 研究の方法

6週令の T リンパ球機能を欠損したヌードマウスに HSC-3 細胞 ( $1 \times 10^7$ /マウス) を皮下注射し、腫瘍の大きさを測定後、腫瘍を取り出し、半分は液体窒素で凍結後、培養細胞と同様に処理し、トリゾール処理により RNA を精製し、RT-PCR で CXCL14 及び他の分化マーカーの遺伝子発現の上昇、および、HSC-3 の癌幹細胞マーカー (CD44v3、v6、v10 など) を測定した。

CXCL14 を発現する口腔癌細胞 (HSC-3) を用いて、CXCL14 をノックアウトした細胞 (HSC-3A) および CXCL14 を過剰発現した細胞 (HSC-3B) を作成した。それぞれ細胞密度を変えて播種し、1日後にトリゾールにて RNA を調整し、RT-PCR にて、いろいろな遺伝子発現の変化を調べた。

#### 4. 研究成果

癌幹細胞は既存の抗癌剤などに対して高い抵抗性をもっており、癌幹細胞の存在が治療後に癌が再発・転移する原因となっている可能性がある。CXCL14 の癌抑制作用の研究過程で、癌幹細胞を多く含み CXCL14 の発現が低い扁平上皮癌細胞に CXCL14 遺伝子を導入して CXCL14 を発現させると、培養系で扁平上皮の分化マーカーであるトランスグルタミナーゼ (TGM) などが発現する事、CXCL14 の発現が移植癌の増殖を抑制した。

癌は未分化なものほど悪性度が高く予後が悪く、分化度が高いものほど悪性度は低い。CXCL14 の癌抑制機構の研究中に CXCL14 が癌細胞の分化を促進している可能性を明らかにした。よって、種々のレベルの CXCL14 を発現する口腔癌細胞 (HSC-3、CXCL14 をノックアウトした細胞、及び CXCL14 遺伝子を導入し強制発現させた細胞) を用いて、癌幹細胞マーカー (CD44v3、v6、v10) の遺伝子レベルでの発現を Real-Time PCR にて測定した結果、癌細胞 (HSC-3) と癌細胞 (HSC-3) に CXCL14 遺伝子を導入し強制発現させた細胞における癌幹細胞マーカー (CD44v3、v6、v10) の遺伝子レベルを比較すると、有意差をもって遺伝子発現が低下していた。これにより、CXCL14 が癌 (幹) 細胞の分化を促進する事が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1件)

Xiao-Yan Yang, Chihiro Miyamoto, Tetsu Akasaka, Kazuhiro Izukuri, Yojiro Maehata, Takeharu Ikoma, Shigeyuki Ozawa, Ryu-Ichiro Hata : Chemokine CXCL14 is a multistep tumor suppressor : Journal of Oral Biosciences, 2016, 58, 16-22

〔学会発表〕(計 4件)

居作和人、前畑洋次郎、畑隆一郎：多段階癌抑制分子ケモカイン CXCL14 の発現は口腔扁平上皮癌細胞の幹細胞因子の発現を制御する 神奈川歯科大学学会 第 53 回総会，横須賀，2018.12.1

居作和人、前畑洋次郎、畑 隆一郎：癌抑制性ケモカイン CXCL14 の発現はヒト口腔扁平上皮癌細胞において幹細胞因子の発現を制御する．第 60 回歯科基礎医学会学術大会，福岡，2018.9.5-7.

Yang X-Y, Kondo T, Ozawa S, Ikoma T, Suzuki K, Iwabuchi H, Maehata Y, Miyamoto C, Izukuri K, Kiyono T, Kubota E, Hata R-I: Expression of the chemokine CXCL14 is a predictive biomarker for cetuximab-dependent tumour suppression. 4<sup>th</sup> World Congress on Cancer Research, Rome, Italy, 2018.8.13-15.

Yang X-Y, Ozawa S, Ikoma T, Kanamori K, Suzuki K, Izukuri K, Maehata Y, Kiyono T, Hata R-I : CXCL14, a multistep tumor suppressing chemokine, regulates expression of stem cell factors. 第 50 回日本結合組織学会学術大会，福岡，2018.6.29-30.

〔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：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(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。