

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20229

研究課題名(和文) 頭頸部扁平上皮癌の新規血清マーカー 開発

研究課題名(英文) Investigation of a novel prognostic serum marker in head and neck squamous cell carcinoma

研究代表者

堅田 浩司 (Katada, Koji)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：60596112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌組織で発現が上昇しているプレクチンというタンパク質が血清中に発現しているかどうかを探索したが、頭頸部癌患者で有意に差がある明らかなものは同定出来なかった。しかしながら、頭頸部癌組織においてプレクチンに関連しているタンパク質であるインテグリンファミリー(ITGB1)についていくつかの検証を行い、癌抑制遺伝子または癌遺伝子として機能するマイクロRNAにより制御されていることが分かった。また、ITGB1が頭頸部癌患者の予後と頭頸部癌細胞の遊走増殖浸潤に関与していることを発見した。

研究成果の概要(英文)：We searched plectin which is expressed in head and neck cancer tissue in serum, but could not identify obvious protein or peptide with significant difference in head and neck cancer patient. However, we validated the evidence for integrin family (ITGB1) which is associated with plectin in head and neck cancer tissues, and we found that it is controlled by microRNAs functioning as tumor suppressor genes or oncogenes. We also discovered that ITB1 is involved in the prognosis of patients with head and neck cancer and migration, proliferation and invasion of head and neck cancer cells.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部癌

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部扁平上皮癌は、近年の内視鏡診断精度の向上により早期診断・早期治療が可能になってきたが、依然進行症例が多く、さらなる治療成績の向上には新たな早期診断マーカーの発見が急務であると考えられる。分子生物学研究のめざましい発展により、ヒトの発癌メカニズムが次々と解明されてきている今日、得られた知見の一部は分子標的治療薬（セツキシマブなど）の形ですでに臨床現場に還元され、治療成績の向上に結びつき始めている。生体内での種々の癌化プロセスは一部の例外を除いてほとんどがタンパク質によって制御されており、発癌のメカニズムの解明、さらには癌化の根本的要因である因子にターゲットを絞った分子標的治療薬の開発、あるいは癌の早期診断に有用な腫瘍マーカーの発見には、直接タンパク質に焦点を当てた疾患プロテオーム解析が非常に効率的な戦略であると考えられる。我々は癌組織から抽出したタンパク質や患者血液を用いて、二次元電気泳動法などの技術を駆使しプロテオーム解析を進めてきた。また、同様の手法を用いてプロテオーム解析し、頭頸部扁平上皮癌に関しても、新規疾患マーカー候補を同定した。その一つに plectin というタンパク質があり、頭頸部扁平上皮癌の組織での発現の上昇を確認した。そこで我々はさらに plectin の予後マーカーとしての有用性を示すために、免疫組織染色を用いた解析を行い、plectin の発現が高い頭頸部癌患者は有意に予後が悪いという結果を得た。次に、癌化メカニズムとの関連を説明するために、機能解析を行ったところ、plectin の発現低下が頭頸部癌細胞の増殖・遊走・浸潤の抑制に関わっていることを解明した。

## 2. 研究の目的

現在においても有効な治療法が存在しない、頭頸部扁平上皮癌について、タンパク質解

析で同定した plectin というタンパク質を起点に、マイクロ RNA 解析も使い、頭頸部癌に特徴的な分子ネットワークを探索する。また、血中での plectin の発現についても探索する。

## 3. 研究の方法

(1) ウェスタンブロットを用いたヒト血清中の plectin の安定した同定

plectin の抗体（数種類）を使用し、ヒト血清で同定できる至適濃度を決定しようとしたが、至適濃度が安定せず、血中で同定するのは困難と考えた。

(2) plectin に関連するインテグリンファミリーの頭頸部癌予後との相関の解明

plectin はインテグリン (ITG) と複合体を作っており、インテグリンファミリーは頭頸部癌においては予後に深くかかわるとされている。一方、miRNA-29 ファミリーは focal adhesion pathway を制御しており、いくつかの遺伝子データを解析した結果、ITGA6 (インテグリン 6) と ITGB1 (インテグリン 1) が頭頸部癌患者の低い予後に関与していた。ITGA6 は以前報告しているため、今回は ITGB1 にフォーカスを置いて研究を行った。多変量解析にて頭頸部癌患者の無増悪生存期間が ITGB1 高発現と有意に相関があった。また、ITGB1 は頭頸部癌組織で有意に高発現しており、ITGB1 と miRNA-29 ファミリーは負の相関が見られた。免疫組織化学染色ではいくつかの頭頸部癌組織で ITGB1 が強発現していた。

(3) ITGB1 と miR-29 ファミリーの頭頸部癌細胞における機能解析

次に頭頸部癌細胞株において ITGB1 と miR-29 ファミリーを高発現させて、効果を確かめた。miR-29 ファミリーを高発現させた細胞は遊走能の低下が見られたが、miR-29 ファミリーと ITGB1 を同時に高発

現させた細胞では遊走能が回復していた。  
また、ITGB1 は下流シグナルである AKT、FAK、ERK1/2 のリン酸化にも関与していることが判明した。

#### 4 . 研究成果

頭頸部癌組織で発現が上昇しているプレクチンというタンパク質が血清中に発現しているかどうかを検索したが、頭頸部癌患者で有意に差がある明らかなものは同定出来なかった。そこで、頭頸部癌においてプレクチンに関連しているタンパク質であるインテグリンファミリーがいくつかの miRNA により制御されていることを突き止め、頭頸部癌細胞の遊走増殖浸潤に関与していることを解明した。

#### 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 )

Passenger strand of miR-145-3p acts as a tumor-suppressor by targeting MYO1B in head and neck squamous cell carcinoma. Yamada Y, Koshizuka K, Hanazawa T, Kikkawa N, Okato A, Idichi T, Arai T, Sugawara S, Katada K, Okamoto Y, Seki N.

Int J Oncol. 2018 Jan;52(1):166-178. doi: 10.3892/ijco.2017.4190. Epub 2017 Nov 6. 査読あり

Inhibition of integrin  $\beta$ 1-mediated oncogenic signalling by the antitumor microRNA-29 family in head and neck squamous cell carcinoma.

Koshizuka K, Kikkawa N, Hanazawa T, Yamada Y, Okato A, Arai T, Katada K, Okamoto Y, Seki N.

Oncotarget. 2017 Dec 11;9(3):3663-3676. doi: 10.18632/oncotarget.23194. eCollection 2018 Jan 9. 査読あり

Regulation of ITGA3 by the anti-tumor miR-199 family inhibits cancer cell migration and invasion in head and neck cancer.

Koshizuka K, Hanazawa T, Kikkawa N, Arai T, Okato A, Kurozumi A, Kato M, Katada K, Okamoto Y, Seki N. Cancer Sci. 2017 Aug;108(8):1681-1692. doi: 10.1111/cas.13298. Epub 2017 Jul 4. 査読あり

Deep sequencing-based microRNA expression signatures in head and neck squamous cell carcinoma: dual strands of pre-miR-150 as antitumor miRNAs. Koshizuka K, Nohata N, Hanazawa T, Kikkawa N, Arai T, Okato A, Fukumoto I, Katada K, Okamoto Y, Seki N. Oncotarget. 2017 May 2;8(18):30288-30304. doi: 10.18632/oncotarget.16327. 査読あり

[ 学会発表 ] ( 計 0 件 )

[ 図書 ] ( 計 0 件 )

[ 産業財産権 ] なし

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

堅田 浩司 (KATADA, KOJI)  
千葉大学・大学院医学研究院・助教  
研究者番号：60596112

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

( )