

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09728

研究課題名（和文）口腔癌の血管浸潤を介した遠隔転移における幹細胞遺伝子の機能解析と治療への展開

研究課題名（英文）Functional analysis and therapeutic development of stem cell genes in distant metastasis through vascular infiltration of oral cancer

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）：Snail/HSC-4細胞にBrachyury遺伝子を導入した細胞を作成し、それをヌードマウスに移植して原発巣と転移巣を形成させて、それぞれの病巣とヌードマウスの血液より腫瘍細胞を取り出し発現遺伝子を比較する予定であったが、遺伝子導入はうまくいかなかった。そこで同じ口腔癌細胞である発光能を持つ高転移唾液腺癌細胞株を用いて、ヌードマウスに移植し、腫瘍形成させ、血液より細胞を回収した。今後は遺伝子の解析を行っていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔がんは希少がんの一つであるが、他臓器に遠隔転移した場合は手術の手立てが少なく非常に不幸な経過をたどることも多い。そこで本実験ではヌードマウスを用いて、腫瘍形成、血管内浸潤、転移巣を形成させ、それぞれの細胞を取り出し、これらの発現遺伝子を比較することで転移に関係する癌幹細胞遺伝子を見つけだすことを目的とした。この遺伝子に対する分子標的治療薬を開発することは口腔癌患者の生存率の向上に寄与するものと思われる。

研究成果の概要（英文）：We planned to generate Snail / HSC-4 cells into which the Brachyury gene had been introduced. The cells were transplanted into nude mice to form primary and metastatic lesions, and tumor cells were extracted from each lesion and blood and the expressed genes were compared. However, gene transfer did not work. Therefore, using the same oral cancer cell, a highly metastatic salivary gland cancer cell line having luminescent ability, the cells were transplanted into nude mice to form tumors, and the cells were recovered from blood. In the future, we plan to analyze the genes.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 転移 幹細胞遺伝子

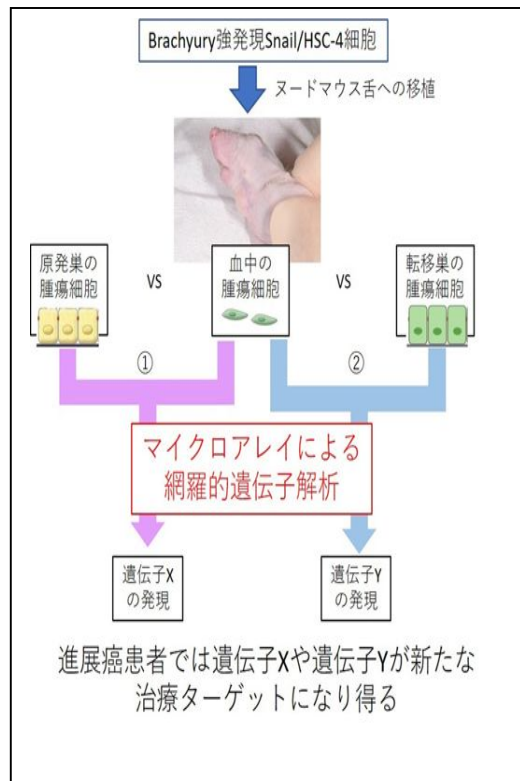
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍に罹患した患者の生存を大きく左右するのは遠隔臓器への転移の有無である。現在、転移を起こすメカニズムは EMT (epithelial-mesenchymal transition: 上皮間葉転換) を起こした腫瘍細胞が原発巣から離れ、血管やリンパ管を通路として離れた臓器に辿り着いたのちに、MET (mesenchymal-epithelial transition: 間葉上皮転換) を起こして再度定着し、腫瘍塊を形成すると考えられている。しかしながら、実際の生体内において腫瘍細胞が血管やリンパ管内に進入し、MET を起こして定着する詳細なメカニズムや中心となる因子についての解明はほとんど進んでいない。腫瘍細胞が転移を起こす為には転写因子 Snail の発現が必須であるという報告が多いが、Snail 蛋白の働きのみで管内への侵入と管外への遊走、遠隔臓器への定着という一連の過程を説明するのは困難と思われ、本申請では実験動物を用いて、これらの詳細なメカニズムや発現因子を解明し新規の分子標的治療への応用を目的とする。

### 2. 研究の目的

乳がんをはじめとして様々な領域で MET (間葉上皮転換) を引き起こす因子の研究が行われているが、基本的にはがん幹細胞マーカーと呼ばれる大元の因子の検索を行っているものがほとんどである。進行がん患者に対してはがん幹細胞マーカーを標的とする治療薬を投与してももはや手遅れであり、このような患者ではがん細胞自体が体内に大量に存在していると考えられるため、新たな転移巣を作らせないことが患者の生存率を高めるのに必要であると考えられる。本研究では EMT (上皮間葉転換) を起こしたがん細胞が管内への侵入、管外への遊走、遠隔臓器への定着にそれぞれ必要な因子を検索することで副作用の少ない分子標的治療薬開発の一助になると考えられる。

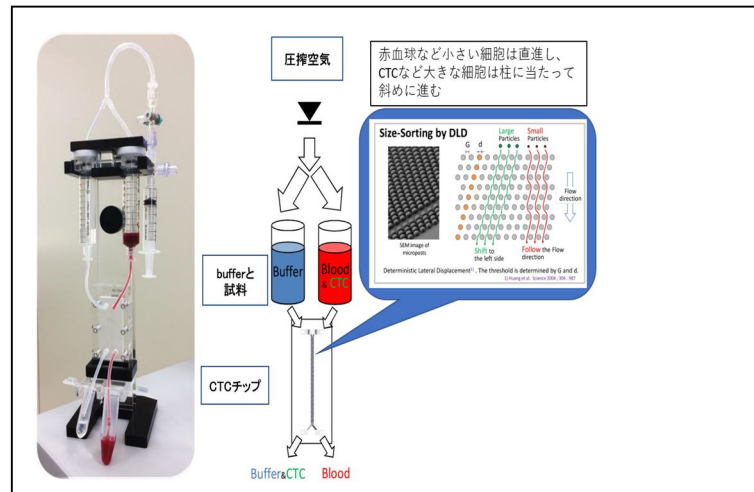


### 3. 研究の方法

Snail/HSC-4 細胞に対し、リン酸カルシウム法にて幹細胞マーカーである Brachyury 遺伝子を導入し、Brachyury 強発現 Snail/HSC-4 細胞株を樹立する予定であったが、遺伝子導入が困難で細胞の確立はできなかった。そこでわれわれは転移能があり GFP 蛍光を持つ腺様嚢胞癌細胞株 (ACCS-M GFP) を新たに購入している。この細胞をヌードマウス舌へ移植し、十分に腫瘍形成が見られたところで原発巣細胞を単離、ヌードマウスの血液も採取して、これらの細胞について次世代遺伝子解析を行う予定とした。

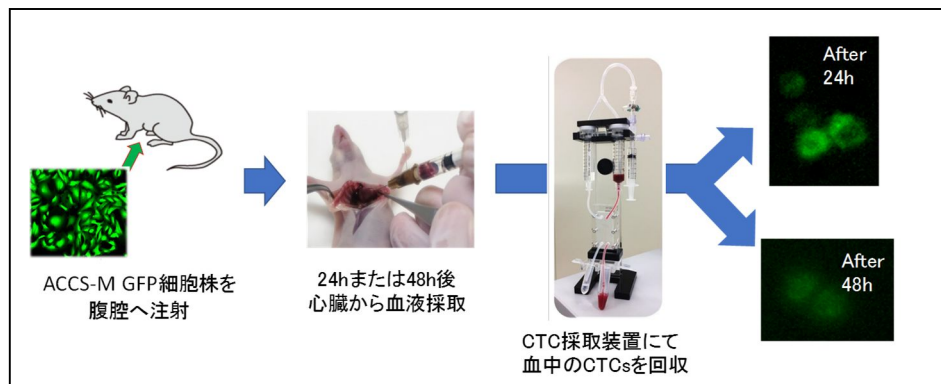
循環血液中に含まれる腫瘍細胞 (Circulating tumor cells : CTCs) によって転移が引き起こされることより絶対数の少ない CTCs の遺伝子解析には CTC1 細胞の確実な単離が必要となる。われわれは富山県工業技術センターが開発した CTC 採取装置 (次項) を用い、共同研究を行っている。これは血液中の細胞成分の大きさによって CTCs を単離でき、しかも生細胞のまま解析できることが特色である。従来の Cell Search system と比較して非常に安価で簡便に CTCs を単

離が可能である。



#### 4. 研究成果

申請者らはこの CTCs 分離装置を用いて予備実験をすでに行っており、ヌードマウスの腹腔へ ACCS-M GFP 細胞株を注射し、24 時間後、48 時間後の CTCs の回収を確認している。



ヌードマウスに ACCS-M GFP 細胞を移植し、原発巣を形成させ、1 か月程度の腫瘍増大期間においてヌードマウスより血液を回収し、細胞を分離、これらのそれぞれの細胞を遺伝子解析にかけるところまでは行えたが、残念ながら R 3 年度の科研費は取得できなかったため資金的な問題により現在、研究は進んでいない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	石田 喬之  (Ishida Takayuki)  (20404501)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・助教   (17701)	
研究分担者	杉浦 剛  (Sugiura Tsuyoshi)  (40322292)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授   (17701)	
研究分担者	中村 典史  (Nakamura Norifumi)  (60217875)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授   (17701)	
研究分担者	比地岡 浩志  (Hijioka Hiroshi)  (70305150)	鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師   (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関