

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19390433

研究課題名（和文） 上咽頭がんをはじめとする EBV 関連腫瘍における Siah1 の分子生物学的解析

研究課題名（英文） Molecular biological analysis of Siah1 in EBV related tumor including nasopharyngeal cancer.

研究代表者

古川 凖（FURUKAWA MITSURU）

金沢大学・副学長

研究者番号：40092803

研究代表者の専門分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：上咽頭癌、パーキットリンパ腫、浸潤、転移、Siah1

### 1. 研究計画の概要

上咽頭癌は高転移性の癌でありその転移には Epstein-Barr virus (EBV) が関与する。我々は EBV 癌蛋白 LMP1 がいかんして発癌を誘導し転移を促進するかを報告してきた。最近我々はこの LMP1 が低酸素誘導因子 1 (HIF1) を誘導し最終的には血管新生を誘導することを報告した。その機序はシヨウジョウバエの光覚受容体発生に必要とされる蛋白 Seven in absentia のヒト相同体 Seven in absentia human homolog (Siah) 1 を介し HIF1 の安定化に寄与する事である。実際の上咽頭癌組織で LMP1, Siah1 あるいは Siah1 関連蛋白の発現量を確認、実際の転移能や生命予後に関する影響を明らかにする。また EBV 関連腫瘍といわれるパーキットリンパ腫をはじめとする EBV 関連リンパ腫でもそれらの発現を検討する。さらには、LMP1 による Siah1 の誘導がこれまで論じられてきた血管新生、抗アポトーシス効果をはじめとして検討を行う。

### 2. 研究の進捗状況

EBV 関連腫瘍患者の生検ブロックの組織染色：最初に EBV 関連腫瘍と考えられている上咽頭がん、ホジキン病、鼻性 NK/T リンパ腫の生検組織を収集し収集された症例は免疫組織学的検索を行った。LMP1, Siah1, HIF1、VEGF などの血管新生因子、DCC および p53 (癌抑制遺伝子) カドヘリンの免疫組織学的検査をおこなったところ LMP1 と VEGF や HIF1、Siah1 の因子には関連する傾向がみられた。LMP1/Siah1 をはじめとした組織染色結果と臨床的パラメーターの解析：上咽頭がん患者では Siah1 はその誘導因子である HIF1、VEGF と関連傾向がみられたがその発現頻度は病期進行度があがれば高い傾向にあった。LMP1 の発現は必ずしも病期進

行度とは比例しなかったため続く実験を遂行した。

LMP1 導入上咽頭細胞の分子生物学的検討：免疫組織免疫染色の結果から上咽頭がん患者では Siah1 はその誘導因子である HIF1、VEGF と関連傾向がみられたがその発現頻度は病期進行度があがれば高い傾向にあった。LMP1 の発現は必ずしも病期進行度とは比例しなかったため何らかの LMP1 以外の Siah1 を誘導する因子の関連がうかがわれたため、分子生物学的に解析を行った。

すなわち、LMP1 発現プラスミドを上咽頭上皮不死化細胞にトランスフェクションにて導入しその後コントロール細胞とウェスタンブロット法を用いて検討を行った。また低酸素自身による Siah1 の誘導が考えられたため、今回は LMP1 導入した細胞とコントロール細胞を各々低酸素チェンバーで低酸素化を行った後にウェスタンブロット法により低酸素誘導因子の発現に相乗効果がみられるかを検討した。低酸素誘導と LMP1 発現の間には相乗的な効果を認めた。

### 3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

（理由）

上述の通り、これまでの研究結果から EBV 関連腫瘍において特に上咽頭癌において Siah1 の役割が明らかになりつつある。また、研究計画は予想以上進展したため、更に詳細な検討をするため今後は後述する通りマウスモデルを作成することで実際の治療につながるような結果が得られないかというレベルまで模索中である。

### 4. 今後の研究の推進方策

LMP1 発現細胞の免疫不全マウスへの移植：更なる解析のため、LMP1 を恒常的に発現する細胞を確

立しこれらを免疫不全マウスの皮下に移植することでin vivoレベルでの低酸素ならびにSiah1の分子機構を解析予定である。今年度までにLMP1を恒常的に発現するシステムとしてレトロウイルス感染法によるシステムを確立し今後それらの細胞をヌードマウスに局所移植することで解析予定である。

#### 5. 代表的な研究成果

(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9件)

1. Murono S, Hirota K, Kondo S, Furukawa M. (他2名,5番目) An extremely rare case of large Delphian node metastasis preceding primary laryngeal cancer. *Auris Nasus Larynx*.36(2009):614-617, 査読有
2. Endo K, Kondo S, Furukawa M (他6名,番目) Phosphorylated ezrin is associated with EBV latent membrane protein 1 in nasopharyngeal carcinoma and induces cell migration. *Oncogene*.28(2009), 1725-1735, 査読有
3. Tsuji A, Wakisaka N, Kondo S, Furukawa M (他2名,5番目) Induction of receptor for advanced glycation end products by EBV latent membrane protein 1 and its correlation with angiogenesis and cervical lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Clin Cancer Res*.14(2008), 5368-75, 査読有
4. Wakisaka N, Kondo S, Furukawa M. (他2名,5番目) A solitary fibrous tumor arising in the parapharyngeal space, with MRI and FDG-PET finding. *Auris Nasus Larynx* 36(2008), 367-371, 査読有
5. Nakashima M, Kondo S, Furukawa M. (他4名,6番目) Impact of MDM2 single nucleotide polymorphism on tumor onset in head and neck squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngologica* 128(2008), 808-813, 査読有
6. Shimizu Y, Kondo S, Shirai A, Furukawa M, Yoshizaki T. (4番目) A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 and interleukin-8 gene promoter predicts poor prognosis in tongue cancer. *Auris Nasus Larynx* 35(2008), 381-389, 査読有
7. Yoshizaki T, Wakisaka N, Kondo S, Furukawa M (他4名,8番目) Treatment of locally recurrent Epstein-Barr virus associated nasopharyngeal carcinoma using anti-viral agent cidfovir. *J Med Virol*.80(2008), 879-882, 査読有
8. Wakisaka N, Murono S, Kondo S, Furukawa

M, Yoshizaki T. (4番目) Post-operative pharyngocutaneous fistula after laryngectomy. *Auris Nasus Larynx* 35(2008), 203-208, 査読有

9. Yoshizaki T, Wakisaka N, Murono S, Kondo S, Furukawa M (他5名,10番目) Intra-arterial chemotherapy less intensive than RADPLAT with concurrent radiotherapy for resectable advanced head and neck squamous cell carcinoma: a prospective study. *Ann Otol Rhinol Laryngol*.116(2007), 754-61, 査読有

[学会発表](計5件)

1. 脇坂尚宏, 古川 侑  
頭頸部癌における動注化学療法と放射線療法の同時併用療法後の TS-1 補助化学療法の有効性に関する検討、第33回頭頸部癌学会、2009年6月12日、ロイトン札幌(北海道)
2. 室野 重之, 吉崎 智一, 古川 侑  
T1 声門癌の再発に対するレーザー手術、第60回日本気管食道科学会、2008年6月7日、熊本県立劇場(熊本県)
3. 室野重之, 近藤 悟, 脇坂尚宏, 吉崎智一, 古川 侑  
T3 喉頭癌に対する超選択的動注化学療法後の声帯可動性、第32回日本頭頸部癌学会、2008年6月12日、ハイアットリージェンシー東京(東京都)
4. 近藤 悟, 脇坂 尚宏, 室野 重之, 吉崎 智一, 古川 侑  
上咽頭細胞における EBV-LMP1 による MUC1 および抗細胞接着作用の誘導 第31回日本頭頸部癌学会、2007年6月14日、パシフィコ横浜(神奈川県)
5. 堀川 利之, 吉崎 智一, 古川 侑  
EBV-LMP1 による上皮間葉移行、Twist の誘導および上咽頭癌転移への関与 第20回日本口腔・咽頭科学会、2007年6月7日、名古屋東急ホテル(愛知県)