

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19791213

研究課題名（和文） 癌関連抗原 Melk の免疫学的検討

研究課題名（英文） Immunohistological analysis of cancer related antigen, Melk

研究代表者

門司幹男（MONJI MIKIO）

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：90380782

研究成果の概要：

Melk の遺伝子導入癌細胞株を作製した。現在それを通常の培養条件の他、無血清、高温、紫外線照射などのストレス条件下でも培養し、細胞増殖やアポトーシスについて検討中である。また頭頸部扁平上皮癌の病理標本を使用して Melk の免疫染色を行い、舌癌や喉頭癌などで発現していることを確認し、予後などとの関連について解析中。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
19 年度	1,100,000	0	1,100,000
20 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,700,000	180,000	1,880,000

研究分野：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：頭頸部外科学

## 1. 研究開始当初の背景

Melk はマウス胎児期に高発現するタンパクとして同定され、発生に重要な役割をもつと考えられているが (New Member of the Snf1 /AMPK Kinase Family, Melk, Is Expressed in the Mouse Egg and Preimplantation Embryo, BABETTE S. HEYER, et al. MOLECULAR

R REPRODUCTION AND DEVELOPMENT 47:148-156, 1997)、癌細胞における機能はあきらかになっていない。我々は以前 Melk が癌細胞で高発現している事、癌患者体内で抗体がつけられている事をあきらかにしている (Head and Neck cancer antigens recognized by t

the humoral immune systems, Monji M, et al. Biochem Biophys Res Commun, 294, 734-741, 2002)。今回Melkに関して癌組織における発現様式を免疫組織学的に検討し、予後などとの関連についてもあきらかにしたい。

また Melk は構造上 AMPK(AMP activated protein kinase)ファミリーと考えられている。AMPK ファミリーはストレス状況下で高発現し、AMPK の活性化と癌細胞のアポトーシスとの関連もあきらかになっており (Acadesine activates AMPK and induces apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells but not in T lymphocytes, Clara Campas, et al. BLOOD, vol 101, No 9, 3674-3680, 2003) 遺伝子導入癌細胞株を作製し Melk の癌細胞における機能解析も行う予定である。

## 2 . 研究の目的

頭頸部癌はその90%近くが扁平上皮癌であり放射線療法、化学療法も比較的効果的であるが、進行癌においてはその治療成績もあまり良くなく、また頭頸部という部位は術後の機能上、審美上の問題も重要である。そのような現状で新たな治療法として注目されている免疫療法を取り上げ、まずその第一歩としてSEREX法という新しい方法を用いて、頭頸部扁平上皮癌関連抗原であるMelk(Maternal embryonic leucine zipper kinase)を同定した。

Melkの頭頸部癌における発現様式や予後などとの関連について免疫組織学的に検討し、癌細胞における機能についてもあきらかにしたい。

### 3. 研究の方法

#### (1) MELK の遺伝子導入株の作成

MELK の全長 cDNA を哺乳動物細胞発現ベクター-pCAGGS-IRES-NEO に組み込み、MELK が発現していない頭頸部癌細胞株 HSC-4 に lipofection 法で遺伝子導入した。発現は RT-PCR 法で確認した。

#### (2) MELK の機能解析

MELK の遺伝子導入株を使用して無血清培地、heat shock などの条件でアポトーシスを誘起させた。

#### (3) 癌組織における MELK の発現

RT-PCR 法と免疫組織学的解析によって、頭頸部癌における MELK の発現解析を行った。

### 4. 研究成果

現在、論文投稿前であり詳しいデータの報告は行わない。

(1) MELK の遺伝子導入株を作成できた。発現量の異なる 5 株を樹立し、機能解析に使用した。

(2) MELK を高発現させることで、細胞増殖が促進され、ストレス条件下でのアポトーシスの抑制が観察された。

(3) 舌癌、喉頭癌、唾液腺癌などで MELK が高発現していることを確認した。また癌組織においては上皮細胞に高発現していることが確認された。

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)

取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6．研究組織

(1)研究代表者

門司幹男(MONJI MIKIO)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：90380782

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし