

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2023

課題番号：19K24061

研究課題名（和文）口腔扁平上皮癌におけるmicroRNA-655の腫瘍浸潤能マーカーとしての開発

研究課題名（英文）Development of microRNA-655 as a marker of tumour invasive potential in oral squamous cell carcinoma.

研究代表者

原園 陽介（Harazono, Yosuke）

東京医科歯科大学・東京医科歯科大学病院・助教

研究者番号：90845364

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：申請者が以前に上皮-間葉転換(EMT)のマーカーとして確立したmicroRNA-655の血清中の測定による、口腔扁平上皮癌の臨床応用への適応を目的とした。申請者はこれまでに膵臓がんを中心とした細胞株を用いてmiR-655の効果を検証してきたため、これを口腔がん細胞株に導入しEMT抑制能を評価したが、立案した仮説を裏付ける結果は見い出せなかった。東京医科歯科大学疾患バイオリソースセンターで保有する、臨床情報を伴った口腔扁平上皮癌患者の血清におけるmicroRNA-655の発現を測定したが、臨床項目との有意差を見出すことはできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵臓がん細胞株や食道扁平上皮癌においてEMTマーカーとして立証されたmicroRNA-655は、口腔扁平上皮癌細胞株や口腔源扁平上皮癌においては、EMTマーカーとしての適応や予後との相関はみられなかった。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to adapt microRNA-655, previously identified by the author as a marker of epithelial-mesenchymal transition (EMT), for clinical application in oral squamous cell carcinoma (OSCC) by measuring its levels in serum. Although the author had previously demonstrated the efficacy of miR-655 in various cell lines, primarily pancreatic cancer, its introduction into an oral cancer cell line to evaluate its EMT suppressive potential did not yield supportive results. Furthermore, the expression of microRNA-655 was measured in the serum of OSCC patients, with clinical data obtained from the Disease Bioresource Centre at Tokyo Medical and Dental University. However, no significant correlations were found between miR-655 expression and clinical parameters.

研究分野：口腔外科

キーワード：microRNA 口腔がん EMT

1. 研究開始当初の背景

がん遺伝子やがん抑制遺伝子に関する研究の飛躍的な進展により、発がんやがんの悪性形質獲得の機序が解明されてきている。しかし口腔がんの多くは遺伝子変異の多様性に富んだ扁平上皮癌であり、重要な遺伝子を抽出することによる治療薬剤や診断マーカーなどの開発は非常に限定的であると言わざるを得ない。また、上皮-間葉転換(EMT:

Epithelial Mesenchymal Transition)は上皮組織が極性を喪失して運動性を獲得する現象で、初期発生時の原腸陥入や創傷治癒における細胞運動能の獲得等に関わる重要な生物現象である。一方で癌細胞においては、上皮系形質を有する癌細胞が間葉系の形質を有する癌細胞へ変化することで浸潤・転移能を獲得し、放射線治療や抗癌剤治療に対する抵抗性を獲得することが近年報告されている。申請者は、内在性の短いノンコーディングRNAであるmicroRNA(miRNA)に着目し、1つのmiRNAが複数の遺伝子を抑制するという特徴を有することから、1つの遺伝子を標的とした分子標的治療薬よりも、より多角的な制御が可能であると予想した。その上で、癌の悪性形質獲得を促すEMTを抑制するmiRNAの同定を目指すべく、上皮系のマーカーであるE-カドヘリンのプロモーター活性を指標とするin vitro機能的探索モデル系を独自に確立し、同モデル系を用いて新規EMT抑制性miRNAとしてmiR-655を同定した。さらにmiR-655は、TGF- β シグナル経路に属するZEB1とTGFB2の2つを直接的な標的遺伝子とし、それらの翻訳抑制を介してE-カドヘリン発現を亢進させ、がん細胞の浸潤能を抑制することを報告した(図2)。加えて、食道扁平上皮癌においてはmiR-655発現と予後に有意に相関を認めることを示した(Harazono Y. et al. PLoS One, 2013)。本研究では、このin vitro機能的探索モデル系を用いて抽出されたmiR-655を口腔扁平上皮癌において評価する。

2. 研究の目的

これまでのEMT研究は、マイクロアレイなどによる発現アレイレベルでの検索から進められてきたが、口腔がんの多くは遺伝子変異の多様性に富んだ扁平上皮癌であり、癌の進展過程において様々な遺伝子異常が蓄積するため、発現解析のみでは癌の悪性化にとって真に重要な分子のスクリーニングとしては不十分である。EMTは上皮系マーカーであるE-カドヘリンの発現消失、すなわち細胞間接着の喪失を一つの特徴としており、申請者はE-カドヘリンのプロモーター活性を指標とするin vitro機能的探索モデル系を独自に確立した。これにより癌が悪性度を増す過程において機能的により重要な分子の抽出が可能となると思われる。本研究は、同モデルに基づいて抽出されたmiRNAを口腔がんに適応する点で独自性を持っていると考えられ、またEMT抑制による新たな口腔がん治療体系の構築へ向けての発展性を含んでいる。さらに、口腔扁平上皮癌検体におけるmiRNA発現と臨床病理学的因子との相関性を検討することで、将来的には次世代型腫瘍マーカーとして注目を浴びている血漿中の遊離miRNA濃度を指標とした口腔がんの浸潤能予測診断への臨床応用に寄与することも目指している。

3. 研究の方法

#1 口腔がん細胞株でのmiRNA 投与によるEMT 抑制能をmigration assay、invasion assay などを用いて評価する。これまでの研究ではすい臓がんを中心とした細胞株を用いてmiR-655 の効果を検証してきたが、これを口腔がん細胞株に導入し、運動能や浸潤能などの変化を評価する。単一の口腔がん細胞株のみでは、EMT 変化が適切に評価できない恐れがあるため、そのがん細胞が上皮系形質を持つのか、間葉系形質を持つのか予め評価した上で、複数の細胞株にて同時併行で実験を行う。

#2 東京医科歯科大学疾患バイオリソースセンターで保有する、口腔扁平上皮癌患者の 血漿中の遊離miR-655 を測定し、臨床病理学的因子との相関性を検討することによって、口腔扁平上皮癌の次世代型浸潤能予測マーカーの臨床応用に寄与することを目指す。

4. 研究成果

口腔がん細胞株にmiR-655を導入しEMT抑制能を評価したが、立案した仮説を裏付ける結果は見い出せなかった。東京医科歯科大学疾患バイオリソースセンターで保有する、臨床情報を伴った口腔扁平上皮癌患者の血清におけるmicroRNA-655の発現を測定したが、臨床項目との有意差を見出すことはできなかった。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------