

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592026

研究課題名(和文)

頭頸部癌幹細胞における遺伝子増幅の蓄積を指標とした抗癌剤・放射線治療の感受性予測

研究課題名(英文)

Amplification of Rad9 in head and neck cancer

研究代表者

石川 和宏 (ISHIKAWA KAZUHIRO)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：40296083

研究成果の概要(和文)：近年、癌組織の中で化学療法や放射線治療に高い抵抗性を示す癌幹細胞が注目されており、頭頸部癌においてもその存在が示されている。頭頸部癌細胞で遺伝子増幅が知られている11q13領域にはDNA損傷後のチェックポイント応答に関与するRad9遺伝子が位置する。本研究ではRad9が癌抑制遺伝子TP53の転写産物p53蛋白質と直接相互作用し、頭頸部癌組織においてRad9とp53は同一の領域、特に癌組織と正常組織の境界領域に発現しており、この部位に癌幹細胞が存在する可能性があること、またRad9はDNA損傷後の修復に関与する蛋白質Rev7と結合することを見出した。すなわち頭頸部癌幹細胞においてRad9はp53やRev7と相互作用してDNA損傷後のチェックポイント応答異常や損傷修復の異常がその病態に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the recent years, evidence is increasing indicating the existence of a subpopulation of resistant tumor cells in head and neck squamous cell carcinoma that cannot be eradicated by chemotherapy or radiotherapy. Human Rad9 is involved in cell cycle checkpoints, repair of damaged DNA, and apoptosis. Previous studies suggest that Rad9 is frequently amplified in epithelial tumor cells of head and neck cancer, but little is known about its role in the development of head and neck cancer. Here we studied the direct association of Rad9 and p53 results in regulation of the expression of *P21* gene. Immunohistochemical analysis in head and neck cancer detected the accumulation of Rad9 in the nuclei of tumor cells, which colocalized with p53. In addition, molecular biological studies revealed the direct association of Rad9 and Rev7, an error-prone DNA polymerase. Collectively, these findings suggest that hRad9 may play a role in genetic instability and carcinogenesis. Further experiments might reveal its role as a diagnostic and prognostic factor, and possibly as a therapeutic target.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,200,000

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：癌幹細胞、癌治療

1. 研究開始当初の背景

近年、癌組織の中で化学療法や放射線治療に高い抵抗性を示す癌幹細胞が注目されている。癌幹細胞では非癌幹細胞とは異なる遺伝子変化を獲得することによりこのような治療抵抗性をしめすと考えられる。頭頸部癌組織においても癌幹細胞が存在し、CD133等の表面マーカーが陽性になると考えられている。我々は頭頸部癌細胞での遺伝子増幅について検討した。頭頸部癌細胞では11q13領域の遺伝子増幅が知られているが、本領域にはDNA損傷後のチェックポイント応答に関与するRad9遺伝子が位置する。今回我々は頭頸部癌細胞で増幅している領域の遺伝子発現と他の因子との相互作用について検討した。

2. 研究の目的

頭頸部癌細胞に関与していると考えられる増幅遺伝子の同定と他の因子との相互作用を検討することで頭頸部癌細胞の病態における関与を検討する。

3. 研究の方法

(1) 293細胞を用いて分子生物学的手法（免疫沈降法、ゲルシフトアッセイ法、クロマチン免疫沈降法）を用いてRad9とp53の相互作用を検討した。

(2) 頭頸部癌におけるRad9の局在とp53との相関を検討するため頭頸部癌患者の臨床検体を用いて免疫組織学的検討を行った。

(3) Rad9とRev7の相互作用の有無を検討するために免疫沈降法を行った。更に各種抗癌剤を投与することにより両者の結合の変化の有無を検討した。また、両者の相互作用を制御する因子をsiRNAを用いて分子生物学的に検討した。

4. 研究成果

(1) Rad9は癌抑制遺伝子*TP53*の転写産物p53蛋白質と直接相互作用し、細胞周期関連因子p21を制御することが示された。癌細胞ではこの制御が破綻することで細胞周期や細胞増殖の異常が生じる可能性があると考えられた。

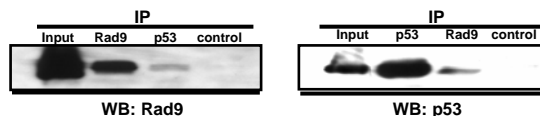


図1 Rad9とp53の結合

(2) 頭頸部癌の免疫組織学的検討でRad9とp53は同一の領域、特に癌組織と正常組織の境界領域に強く発現しており、この部位で癌組織の活動性が高く、ここに癌幹細胞が存在する可能性があることが示唆された。

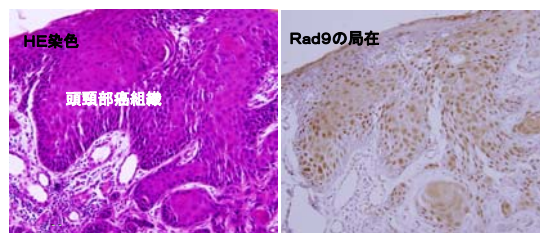


図2 頭頸部癌組織におけるRad9の局在

(3) Rad9がDNA損傷後の修復に関与する蛋白質Rev7と結合することを見出した。Rad9とRev7の結合においてはDNA複製時にクランプローダーとして働くRad17がこれを制御することを見出した。頭頸部癌ではRad9の発現異常により損傷したDNAの修復過程に異常が生じる可能性があると考えられた。

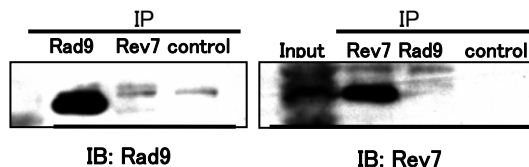


図3 Rad9とRev7の結合

すなわち頭頸部癌幹細胞において異常発現したRad9は、p53やRev7との相互作用を通じてDNA損傷後のチェックポイント応答異常や損傷修復の異常を生じ、その病態に関与している可能性が示唆された。

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1件)

- ① 石川和宏、西野宏、市村恵一、石井秀始、頭頸部癌におけるRad9 発現、頭頸部癌、査読有、34 巻、2008、493－497

[学会発表] (計2件)

- ① 石川和宏、西野宏、市村恵一、石井秀始、頭頸部癌におけるRad9 の発現の免疫組織学的検討、第109回 日本耳鼻咽喉科学会総会、2008年5月16日、リーガロイヤルホテル大阪(大阪)
- ② 石川和宏、西野宏、市村恵一、石井秀始、頭頸部癌におけるRad9 の発現の検討、第32回 頭頸部癌学会、2008年6月13日、ハイアットリージェンシー東京(東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 和宏 (ISHIKAWA KAZUHIRO)
自治医科大学・医学部・講師
研究者番号：40296083

(2) 研究分担者

市村 恵一 (ICHIMURA KEIICHI)
自治医科大学・医学部・教授
研究者番号：00010471
西野 宏 (NISHINO HIROSHI)
自治医科大学・医学部・准教授
研究者番号：50245057
石井 秀始 (ISHII HIDESHI)
九州大学・生体防御医学研究所・学術
研究員
研究者番号：10280736