

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008年～2009年
 課題番号：20791519
 研究課題名（和文）
 FGF結合蛋白 HBp17/FGF-BP を標的にした口腔癌の分子標的治療の開発研究
 研究課題名（英文）
 Developmental study of molecular target therapy to oral cancer with FGFBP.
 研究代表者
 新谷 智章（SHINTANI TOMOAKI）
 広島大学・病院・助教
 研究者番号：90403518

研究成果の概要（和文）：

HBp17の siRNA を設計し、遺伝子導入を行った。コントロールとしてスクランブル siRNA を遺伝子導入し、HBp17 遺伝子発現を検討した。siRNA 導入 48 時間後の細胞抽出液と培養上清中での HBp17 蛋白量の比較、検討を行った。HBp17siRNA 遺伝子導入の OSCC 細胞の増殖に及ぼす影響について検討を行った。siRNA は、siRNA 遺伝子導入した細胞である。遺伝子レベルにおいて、明らかに有意な HBp17 遺伝子発現の低下を認めた。細胞抽出液と培養上清中での結果では、siRNA 導入細胞で、有意に HBp17 蛋白の発現の低下が認められた。KA、UE、NAともに、HBp17siRNA 遺伝子導入細胞では増殖が抑制された。

研究成果の概要（英文）：

HBp17 siRNA was synthesized and transfected. Control scrambled siRNA was used. Quantitative RT-PCR analysis was performed. Then, we performed western blotting analysis to compare with HBp17 in cell and culture media at 48hrs after transfection. Finally growth assay was done. In HBp17-transfected cells, HBp17 mRNA expression was significantly decreased compared with control. HBp17 protein expression was also decreased in cell or culture media. In proliferation assay, growth of HBp17 siRNA transfected-OSCC KA, UE and NA was inhibited.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：口腔外科学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：分子標的治療、FGF結合蛋白

1. 研究開始当初の背景

Heparin-Bindingprotein17/FGF-Binding Protein (FGFBP/HBp17)は、私の所属する研究室の岡本らが、外陰部扁平上皮癌(SCC)細胞株 A431 の培養上清より FGF-2 とともに分離・精製した。FGFBP/HBp17 は 17kDa のヘパリン親和性分泌蛋白であり、上皮細胞で特異的に発現され、FGF-1, -2 と可逆的に結合することから、標的細胞での FGF の遊離・活性化に深く関与していると考えられる。

2. 研究の目的

口腔癌・癌幹細胞における FGFBP/HBp17 の役割を明らかにし、さらに口腔癌の癌幹細胞を標的としたあらたな診断・治療法を開発することを目指す。

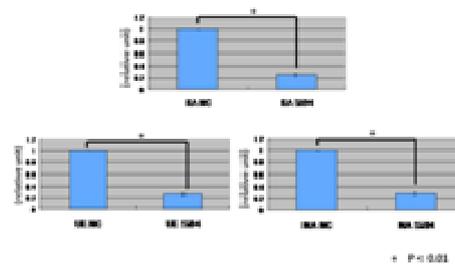
3. 研究の方法

当科で樹立した口腔扁平上皮癌細胞株 NA, UE, KO の細胞株を用いた。無血清培地として、RPMI と DMEM を 1 対 1 で混合した RD 基礎培地にインスリン、トランスフェリン、2-アミノエタノール、2-メルカプトエタノール、亜セレン酸ナトリウム、オレイン酸の 6 Factor を添加した RD6F を用いた。また、HBp17 の DNA シーケンスより siRNA を設計し、遺伝子導入を行った。コントロールとしてスクランブル siRNA を遺伝子導入する。遺伝子導入 48 時間後のサブコンフレントの細胞を回収し、RNA を抽出し、リアルタイム定量 PCR にて HBp17 遺伝子発現を検討した。siRNA 導入 48 時間後の細胞抽出液と培養上清中での HBp17 蛋白量の比較、検討を行った。最後に、HBp17siRNA 遺伝子導入の OSCC 細胞の増殖に及ぼす影響について検討を行った。

4. 研究成果

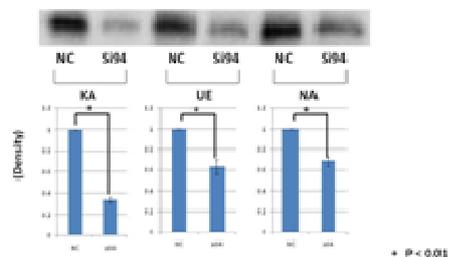
si94 は、siRNA 遺伝子導入した細胞である。遺伝子レベルにおいて、KA, UE, NA すべての細胞において、明らかに有意な HBp17 遺伝子発現の低下を認めた。

HBp17/FGFBP RNAi 遺伝子導入 OSCC 細胞における HBp17/FGFBP mRNA 発現の検討

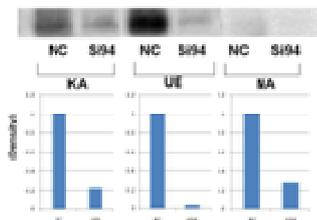


細胞抽出液と培養上清中での結果では、siRNA 導入 KA, UE, NA では、有意に HBp17 蛋白の発現の低下が認められた。

HBp17/FGFBP RNAi 遺伝子導入 OSCC 細胞抽出液における HBp17/FGFBP 蛋白の発現の検討

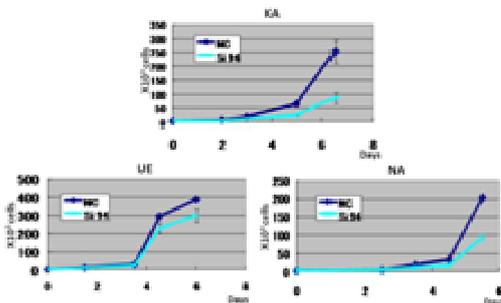


HBp17/FGF-BP RNAiを用いた
OSCC細胞培養上清における蛋白の発現



培養5日後以降は、KA、UE、NAともに、HBp17siRNA 遺伝子導入細胞では増殖が抑制された。特にUE、NAでは、有意な細胞増殖能の低下を認めた。

HBp17/FGFBP RNAi遺伝子導入によるOSCC細胞の
増殖抑制



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3件)

1. Lewis VO, The interleukin-11 receptor alpha as a candidate ligand-directed target in osteosarcoma: consistent data from cell lines, orthotopic

models, and human tumor samples, Cancer Research, 査読有り, 69, 2009, 1995-1999

2. 新谷智章, 著名な脂肪化を伴った頬部血管平滑筋腫の1例, 日本口腔外科学会誌, 査読有り, 54巻, 2008, pp621-625
3. 北川雅恵, 広島大学病院歯科における歯科用金属アレルギー被疑患者を対象としたパッチテストおよび元素分析の過去10年間の集計, 広島大学歯学会誌, 査読有り, 40巻, 2008年, pp124-128

[学会発表] (計2件)

1. FGF結合蛋白FGFBP/HBp17を標的としたRNAiによる口腔扁平上皮癌細胞の増殖抑制効果の検討.

岡崎文彦, 新谷智章, 林堂安貴, 藤井良典, 笛吹恵美子, 虎谷茂昭, 岡本哲治

第64回NPO法人日本口腔科学会学術集会

札幌プリンスホテル, 2010年6月17日

2. 歯科性組織におけるへパリン親和性FGF結合蛋白FGFBP/HBp17の免疫組織学的検討

新谷智章, 第62回日本口腔科学会総会

福岡国際会議場, 2008年4月18日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新谷 智章 (SHINTANI TOMOAKI)

広島大学・病院・助教

研究者番号: 90403518

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号：