

機関番号：16301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21792009

研究課題名（和文） 腺様嚢胞癌の休眠療法の開発

研究課題名（英文） Tumor dormancy therapy for the human adenoid cystic carcinoma

研究代表者

住田 知樹 (SUMIDA TOMOKI)

愛媛大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：50314951

研究成果の概要（和文）：

性ステロイドホルモンレセプターを介した治療、および、唾液腺腺様嚢胞癌に強発現が認められる ID1 をターゲットにした治療により、ヒト腺様嚢胞癌細胞の増殖や浸潤が抑制され、休眠療法として有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In this study, we confirmed that hormonal therapy and Id1 targeting therapy could reduce the growth and invasion of adenoid cystic carcinoma cells. These results indicate that this strategy has a potential for the tumor dormancy therapy for the human adenoid cystic carcinoma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：医学・外科系歯学

キーワード：腺様嚢胞癌、ID1、エストロゲンレセプター、アンドロゲンレセプター

## 1. 研究開始当初の背景

ヒト腺様嚢胞癌の長期生存率は惨憺たるものである。本腫瘍は乳癌との類似性が外科病理学の世界でよく議論され、特に性ステロイドホルモンレセプターの発現は共通点が指摘されている。しかし、これらレセプターとの関係を見た報告の多くは免疫染色による発現傾向の報告にとどまっている。実際に培養細胞や、*in vivo*での効果を見た論文はなく2007年にプロゲステロンシステムに関して我々が報告した以外は渉猟し得ない。また、単一遺伝子を標的に基礎的実験を試みた報告は散見されるが、効果は十分とはいえない。

## 2. 研究の目的

先に述べたようにヒト唾液腺腫瘍の中で特に腺様嚢胞癌は、5年生存率が高いものの10年での生存率は極めて低い（5年生存率：71.5%、10年生存率：25.6%、Lopes MA, et al. *Head Neck* 20(8)：699-706. 1998）。しかし、腺様嚢胞癌は、その好発年齢が中年期以降ということ考えると、長期の生存率を高めることはQOLの向上に繋がる上、本来の余命を全うできる可能性のある癌腫だと言える。つまり、本来発育の遅い本疾患において、さらに進展を遅らせることが出来れば根治に至

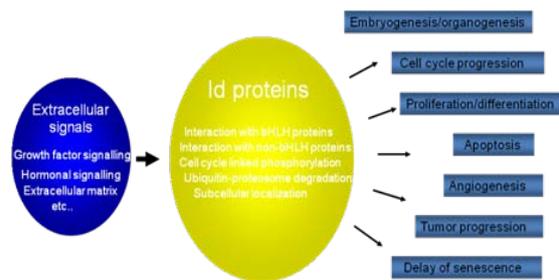
らしめなくても制御することが可能であると考えられる。この腺様嚢胞癌の休眠療法 (dormancy therapy) を開発することが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

本研究では休眠療法開発のために以下に述べる2つのストラテジーを考えた。

#### 1) IDファミリー腫瘍関連遺伝子を標的にした休眠療法の開発

マイクロアレイ解析などから ID ファミリー遺伝子のなかでも特に ID1 が唾液腺癌細胞で強く発現し、ACCM でさらなる発現亢進が見られることから、ID1 をターゲットにした研究を行った。既に、antisense-ID1 の発現ベクターや ID1 発現を有意に抑制する siRNA は所有しているため、培養細胞による増殖の検討、培養細胞による浸潤能の判定などから実験を開始した。既に研究代表者が論文発表の中で報告した方法を使い研究を遂行した (T Sumida, PY Desprez et al.: *Cancer Res.* 64(21):7886-92, 2004)。



ID ファミリー腫瘍関連遺伝子は細胞の様々なイベントに関与していることが報告されている

#### 2) ホルモンレセプターを標的にした休眠療法の開発

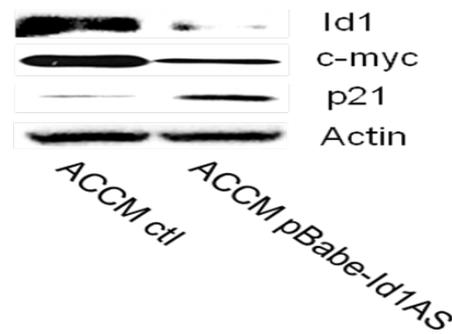
研究代表者が所属する研究室では ACC2、ACC3、ACCM という同一親株に由来する浸潤転移能の異なる細胞株を所有している。これらの細胞を使って、細胞レベルでの腫瘍の増殖、浸潤に関する検討を行った。ホルモンレセプターのターゲットとして、エストロゲン-エストロゲンレセプターシステム、アンドロゲン-アンドロゲンレセプターシステムが挙げられる。唾液腺腫瘍におけるエストロゲンレセプターの発現は検討中であるが、アンドロゲンレセプターシステムに関しては未だ検討を加えていない。高転移性の ACCM でエストロゲンレセプターでは発現の消失が確認されており (未発表)、既に発表したプログステロンレセプターとは逆の作用を有していると考えている。これは乳癌と同様である。しかし、アンドロゲンレセプターではこの確認できていない。それにより、ホルモンそのも

の投与が有効であるのか、阻害剤が有効であるのかの検討が必要になる。従って、結果により、培養細胞による増殖の検討や、培養細胞による浸潤能の判定には、エストロゲン、アンドロゲン及びその阻害剤を使用することとなる。実験動物を用いた移植腫瘍への効果を確認する必要がある。

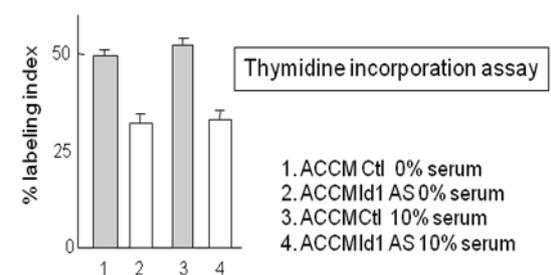
### 4. 研究成果

#### 1) IDファミリー腫瘍関連遺伝子を標的にした休眠療法の開発

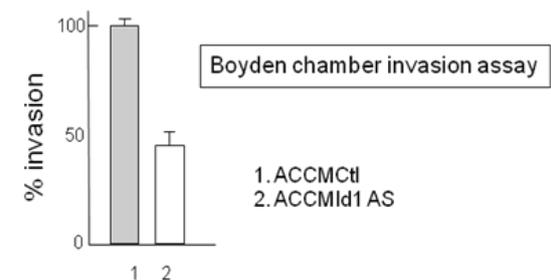
antisense-ID1 の発現ベクターを導入した腺様嚢胞癌培養細胞 (ACCM 細胞: 高浸潤能) で増殖の抑制 (コールターカウンターによる細胞数計測、フローサイトメトリーによる S 期細胞率の測定など) を確認した。また、浸潤能の抑制 (ボイデンチャンバー法による浸潤能の比較、ゼラチンゼイモグラムによる検討) も確認することができた。またベクター導入細胞では形態の上皮様の変化が見られたが、接着分子などの検索も行った。



ID1-AS 細胞では細胞周期関連タンパクも変化を認めた。



増殖は有意に抑制された。

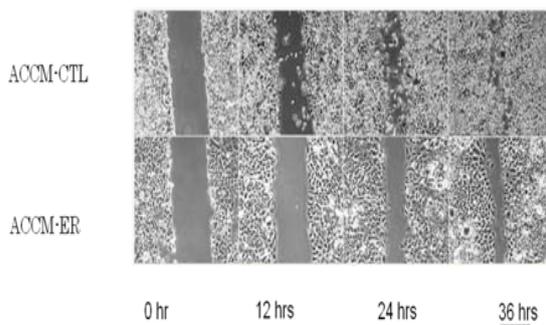


浸潤も有意に抑制された

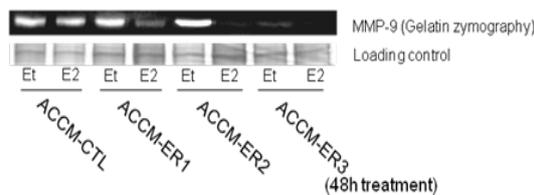
## 2) ホルモンレセプターを標的にした休眠療法の開発

パラフィン切片を用いてエストロゲンレセプターの発現を組織にて確認した。エストロゲンレセプターを導入した腺様嚢胞癌培養細胞 (ACCM 細胞: 高浸潤能、エストロゲンレセプターを持たない) でエストラジオールによる増殖の亢進 (コールターカウンターによる細胞数計測)、タモキシフェンによる増殖の抑制 (コールターカウンターによる細胞数計測) を確認した。また、antisense-ID1 の発現ベクターを導入した腺様嚢胞癌培養細胞同様、こちらでもエストロゲンレセプターの導入のみで、細胞形態の大きな変化が確認された。具体的にはより上皮様となり細胞間の接着がより亢進していることが示唆されたが、E、N、P-Cadherin をはじめとした接着に関連する分子の発現の確認も行ったが上皮間葉移行の変化は確認できなかった。つまり、エストロこれら結果からエストロゲンレセプターシステムに関しては腺様嚢胞癌においても乳癌と同じ治療戦略を用いることができる可能性が示唆された。レセプター発現唾液腺癌細胞では既にプロゲステロン投与が増殖、浸潤の抑制に有効なことを *in vitro* において確認し発表した (T Yoshimura, T Sumida, P-Y Desprez, et al. *Endocrine-Related Cancer*. 14: 2007)。さらに現在、*in vivo* においても効果があることを確認し論文執筆中である。

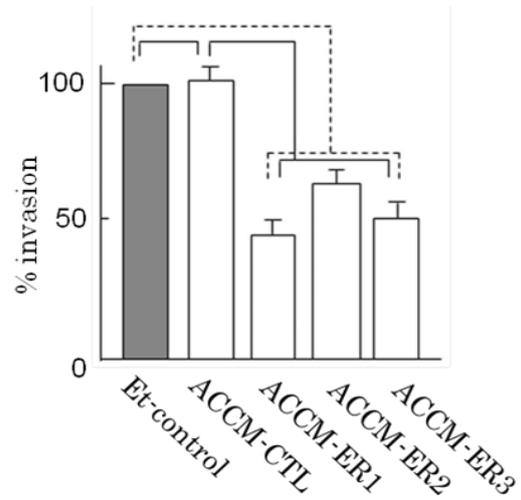
### Scratch assay



スクラッチアッセイにてタモキシフェン処理 ACCM-ER 細胞は閉鎖の遷延を認めた。

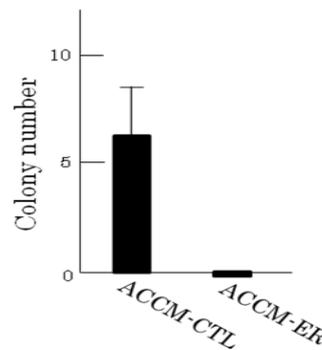


MMP-9 の発現抑制、機能抑制が関与していることが考えられた。



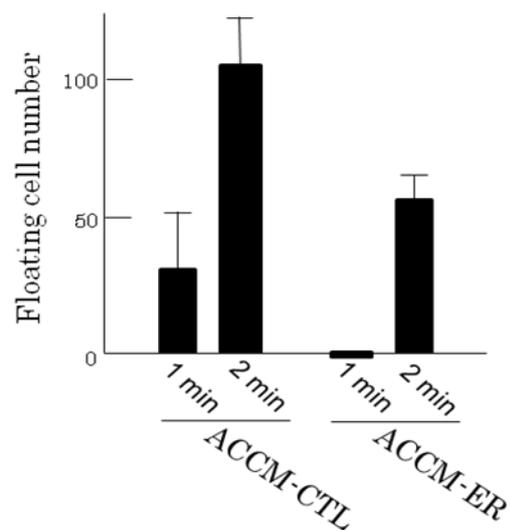
浸潤能も有意に抑制された。

### Colony formation assay



タモキシフェン処理により足場依存性の喪失も認められた

### Trypsin sensitivity



トリプシン感受性も増加し、タモキシフェン処理が細胞接着に影響を及ぼすことが明らか

かとなった。

## 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3件)

1. Silencing Id-1 inhibits lymphangiogenesis through down-regulation of VEGF-C in oral squamous cell carcinoma. Z Dong, F Wei, C Zhou, T Sumida, H Hamakawa, Y Hu, S Liu. Oral Oncol. : 47(1): 27-32. 2011. 査読有

2. Overexpression of Id-1 Is Associated with Tumor Angiogenesis and Poor Clinical Outcome in Oral Squamous Cell Carcinoma. Z Dong, S Liu, C Zhou, T Sumida, H Hamakawa, Z Chena, P Liu, F Wei. Oral Oncol. ;46(3): 154-157. 2010. 査読有

3. 悪性唾液腺腫瘍におけるホルモン療法の可能性. 住田知樹、石川詔子、浜川裕之、: 日本口腔組織培養学会誌 : 18(2): 13-18, 2010. 査読有

[学会発表] (計1件)

1. 性ステロイドホルモンが腺様嚢胞癌細胞の運動能、接着に及ぼす影響に関する検討 住田知樹、石川詔子、浜川知大、藤田陽平、西川由希子、中城公一、浜川裕之 日本口腔科学会総会 6月24日 2010年 札幌市

[図書] (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://emedical.s317.xrea.com/contents/?cat=6>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

住田 知樹 (SUMIDA TOMOKI)

愛媛大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 50314951