

機関番号：24601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21792023

研究課題名（和文）口腔癌の新規リンパ管新生マーカーMIAの機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of MIA, which is the novel lymphangiogenic marker of oral cancer

研究代表者

笹平 智則（SASAHIRA TOMONORI）

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：90405374

研究成果の概要（和文）：口腔癌におけるMIAの役割を検討したところ、MIAは口腔扁平上皮癌の増殖、浸潤およびアポトーシス抵抗性に関与することが明らかとなった。さらにMIAはVEGF-A、VEGF-C、VEGF-Dの発現を誘導することで血管新生、リンパ管新生を促進し、予後不良因子となることを見出した。以上より口腔癌においてMIAを分子標的とした治療が有用である可能性が強く示唆された。

研究成果の概要（英文）：We examined the role of MIA in oral cancer. We clarified MIA involves tumor growth, invasion, and apoptosis-resistant in oral squamous cell carcinoma. We also found MIA accelerates angiogenesis and lymphangiogenesis by induction of VEGF-A, VEGF-C, and VEGF-D and MIA is poor prognostic factor in oral cancer. These results suggested that MIA is a useful diagnostic and therapeutic target of oral cancer.

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	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：分子病理学

科研費の分科・細目：外科系歯学・口腔外科学一般

キーワード：口腔癌、MIA、血管新生、リンパ管新生

## 1. 研究開始当初の背景

がんにおいては、がん細胞の分泌するリンパ管新生因子により腫瘍リンパ管が誘導されることでリンパ節転移を促進することが示されている。申請者らは、口腔扁平上皮癌の新規リンパ管新生・リンパ節転移促進因子としてMIA gene familyを同定した。しかしながらMIA gene familyの詳細な機能や関連シグナルは、まだ明らかではなかった。

## 2. 研究の目的

本課題の目的は口腔扁平上皮癌におけるMIA

gene family 関連シグナルの検索、ならびに詳細な機能解析により、MIA gene familyをターゲットとしたあらたな口腔扁平上皮癌の分子標的診断・治療の可能性を模索することである。

## 3. 研究の方法

(1) 臨床検体を用いた検討

①免疫組織化学による口腔扁平上皮癌でのMIA gene familyの発現解析と臨床病理学的

因子との関連を検索。

②ELISA による腫瘍内 MIA gene family の分泌レベルの測定。

③口腔扁平上皮癌新鮮凍結標本を用いたリアルタイム PCR による MIA gene family 発現解析。

(2) in vitro での検討

①口腔扁平上皮癌細胞株を MIA gene family 遺伝子導入あるいは siRNA 処理することによる増殖能、浸潤能、アポトーシス誘導能等の変化を検討する機能解析。

②口腔扁平上皮癌細胞株を MIA gene family 遺伝子導入あるいは siRNA 処理することによる MIA 関連遺伝子の発現変化の解析。

(3) マイクロアレイ

MIA gene family の発現が確認されている口腔扁平上皮癌細胞株である HSC3 細胞と HSC3 細胞を MIA gene family siRNA 処理した細胞株を、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析により比較することで、MIA gene family の下流のパスウェイを明らかにする。

#### 4. 研究成果

(1) 臨床検体を用いた MIA の発現解析

①101 症例の口腔扁平上皮癌材料を用いて免疫組織化学を行ったところ、MIA は口腔扁平上皮癌細胞株の細胞質に発現しており、MIA の発現レベルはリンパ管新生数のみならず血管新生数とも有意に相関していた。また MIA の発現レベルが高い症例ほど VEGF-A、VEGF-C ならびに VEGF-D の発現レベルも高かった。

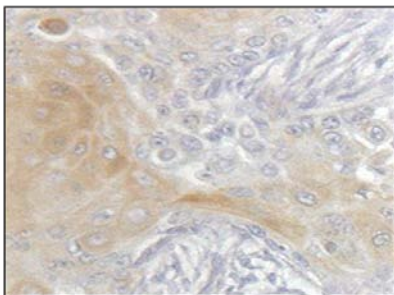


図1 口腔扁平上皮癌における MIA の発現

②MIA の発現レベルは単独では予後不良因子とならなかったが、リンパ管新生数、血管新生数、ならびに VEGF の発現量と組み合わせることで予後不良因子となることが明らかとなった。

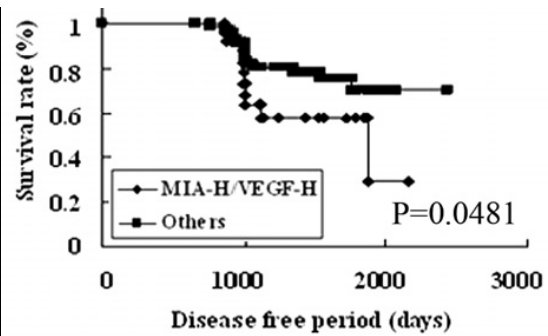


図2 MIA の発現レベルと予後

③正常口腔粘膜と比較して、口腔扁平上皮癌では MIA の遺伝子発現レベルが有意に上昇していた。

④ELISA においても口腔扁平上皮癌細胞が分泌する MIA のレベルは、VEGF-A、VEGF-C および VEGF-D の分泌レベルとよく相関していた。

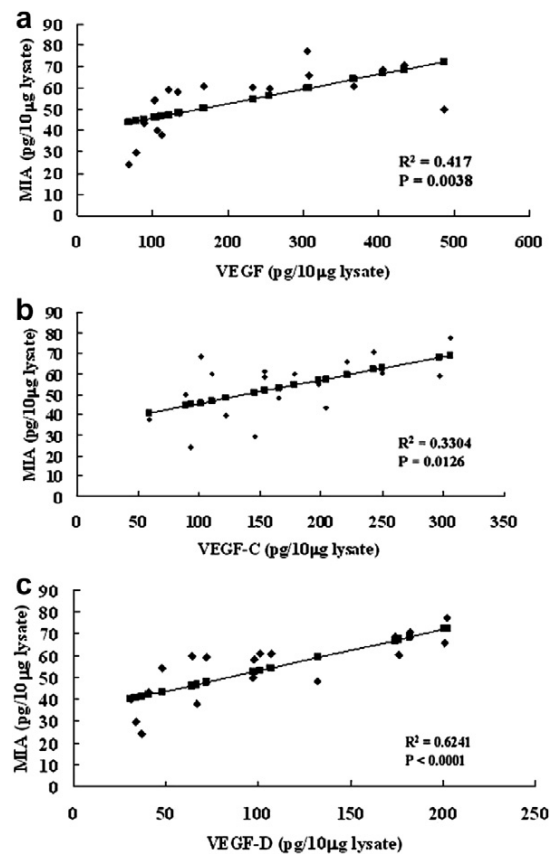


図3 口腔扁平上皮癌における MIA の分泌レベルと VEGF family の分泌レベルの相関

(2) in vitro における MIA の機能解析

①MIA を遺伝子導入ないしは siRNA 処理した口腔扁平上皮癌細胞株では無処理のコントロール細胞株と比較して、増殖能、浸潤能、およびアポトーシス誘導能に変化を認めた。

また血管新生モデルを用いた検討では、MIA は口腔扁平上皮癌細胞の血管新生を誘導することを発見した。

②MIA ノックダウン処理あるいは遺伝子導入により口腔扁平上皮癌細胞株における VEGF-A、VEGF-C、VEGF-D の発現レベルが変化した。

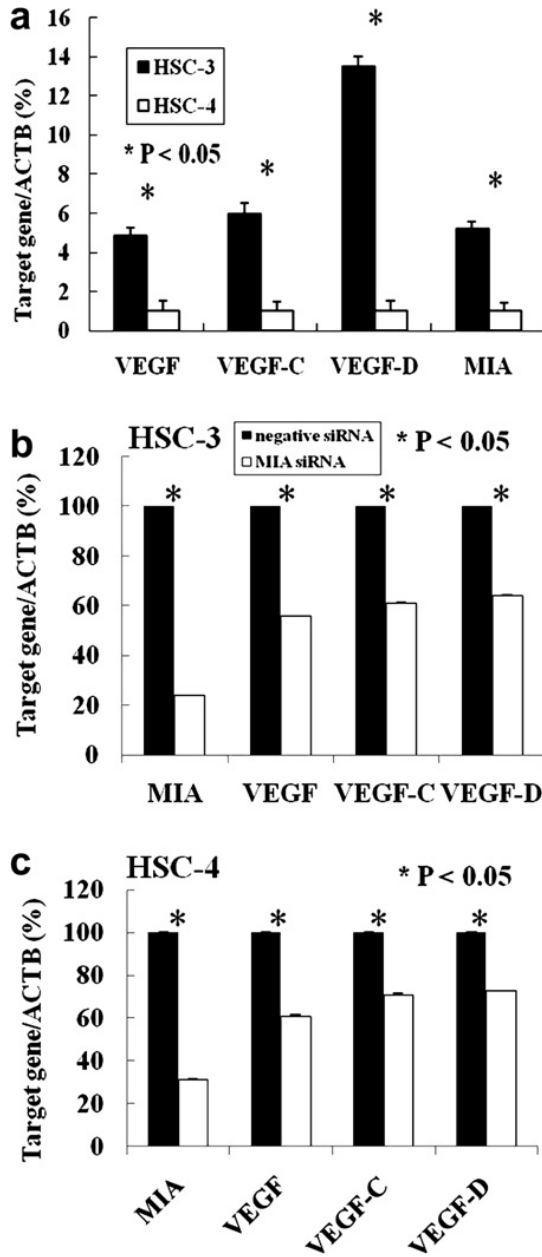


図4 MIA siRNA 処理による口腔扁平上皮癌細胞株における VEGF family の発現変化

③免疫沈降により、口腔扁平上皮癌においては integrin family が MIA の受容体であることが明らかとなった。

(3)マイクロアレイ解析  
HSC3 細胞と HSC3 細胞を MIA siRNA 処理した

細胞株を用いたマイクロアレイ解析では、既知のアポトーシス関連シグナルや血管新生関連シグナル以外に、未知の複数のシグナルが活性化あるいは抑制されており、MIA 下流の詳細なパスウェイが明らかとなった。

本研究により、MIA は口腔扁平上皮癌の血管新生・リンパ管新生促進因子として作用することを明らかにした。また今までは不明であった MIA の機能や下流のシグナルを明らかにすることが出来た。なお、MIA のほかの gene family である MIA2、MIA3 も口腔扁平上皮癌では oncogene として作用し、様々な機能を有していることも見出している。口腔扁平上皮癌では MIA を標的とした抗血管新生、リンパ管新生療法が有用である可能性が示唆され、非常に意義深い知見が得られたと考えられる。

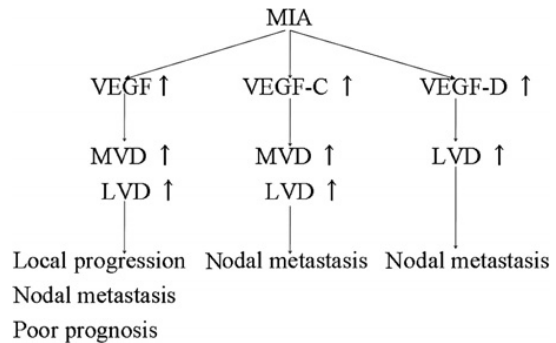


図5 口腔扁平上皮癌における MIA と臨床病理学的因子の関連のシェーマ

### 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4件)

①笹平智則、頭頸部癌におけるリンパ管新生、奈良医学雑誌、60巻、2009、85-92、査読有

②Moriwaka Y, Luo Y, Ohmori H, Fujii K, Tatsumoto N, Sasahira T, Kuniyasu H: HMGB1 attenuates anti-metastatic defence of the lymph nodes in colorectal cancer、Pathobiology 77 (1)、2010、17-23、査読有

③Sasahira T, Kirita T, Kurihara M, Yamamoto K, Bhawal UK, Bosserhoff AK, Kuniyasu H: MIA-dependent angiogenesis and lymphangiogenesis are closely associated with progression, nodal metastasis and poor prognosis in tongue squamous cell carcinoma、Eur J Cancer 46 (12)、2010、2285-94、査読有

④Sasahira T, Kurihara M, Yamamoto K,

Bhawal UK, Kirita T, Kuniyasu H :  
Downregulation of runt-related  
transcription factor 3 (RUNX3) associated  
with poor prognosis of adenoid cystic and  
mucoepidermoid carcinomas of the salivary  
gland, Cancer Sci 102 (2)、2011、92-7、  
査読有

〔学会発表〕(計7件)

①笹平智則、栗原 都、山本一彦、桐田忠昭、  
國安弘基：口腔癌のリンパ管新生・リンパ節  
転移への MIA の関与、第 18 回日本がん転移  
学会総会、2009 年 7 月 23 日、旭川

②栗原 都、笹平智則、山本一彦、桐田忠昭、  
國安弘基：口腔扁平上皮癌における MIA2 の  
発現、第 20 回日本消化器癌発生学会総会、  
2009 年 11 月 26 日、広島

③笹平智則、栗原 都、山本一彦、パワー・  
ウジャール、桐田忠昭、國安弘基：口腔癌に  
おける MIA3 の役割、第 99 回日本病理学会総  
会、2010 年 4 月 29 日、東京

④栗原 都、笹平智則、山本一彦、桐田忠昭、  
國安弘基：口腔扁平上皮癌における MIA2 の  
発現、第 99 回日本病理学会総会、2010 年 4  
月 29 日、東京

⑤笹平智則、栗原 都、山本一彦、パワー・  
ウジャール、桐田忠昭、國安弘基：口腔癌に  
おける MIA3 の役割、第 69 回日本癌学会総会、  
2010 年 9 月 24 日、大阪

⑥栗原 都、笹平智則、山本一彦、桐田忠昭、  
國安弘基：口腔扁平上皮癌における MIA2 の  
発現、第 69 回日本癌学会総会、2010 年 9 月  
24 日、大阪

⑦笹平智則、栗原 都、山本一彦、パワー・  
ウジャール、桐田忠昭、國安弘基：MIA3 は口  
腔扁平上皮癌の脈管新生を誘導する、2010 年  
11 月 18 日、軽井沢

〔図書〕(計1件)

① Sasahira T, Kuniyasu H. Transworld  
Research Network、Recent Advances in  
Metastasis of Gastrointestinal Cancers、  
2010、23-40

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

**笹平 智則** (SASAHIRA TOMONORI)  
奈良県立医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90405374