

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791795

研究課題名(和文) 上皮細胞極性制御因子とhippo経路を介した咽頭がん浸潤・転移機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of invasion and metastasis system in pharyngeal carcinoma by epithelial cell polar factor and hippo signal pathway

研究代表者

近藤 敦 (Kondo, Atsushi)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：40457718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：細胞間接着装置タイト結合分子の一つであるJAM-Aは近年食道癌や乳癌で高発現していることが知られているが咽頭癌をはじめとする頭頸部癌での発現についてはわかっていないため、今回頭頸部扁平上皮癌患者の手術材料をもちいてJAM-Aの発現パターンについて検討した。凍結材料を用いたReal time PCR法、パラフィン切片を用いた免疫染色法により検討したところ、JAM-Aは頭頸部扁平上皮癌の原発巣、浸潤部、転移巣に高発現していた。

研究成果の概要(英文)：Recently, it is reported that JAM-A is closely associated with invasion and metastasis of cancers such as breast cancer, esophageal cancer. However little is known about the role of JAM-A in invasion and metastasis of head and neck squamous cell carcinoma. Head and neck squamous cell carcinoma tissues obtained by surgery from patients with head and neck carcinoma. To investigate expression and distribution of JAM-A, we performed real-time PCR, immunofluorescence staining by using frozen sections and immunohistochemistry by using paraffin sections. JAM-A was highly expressed in head and neck squamous cell carcinoma

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：咽頭癌 細胞極性 タイト結合 接着分子

### 1. 研究開始当初の背景

がん制圧には発癌抑制、増殖抑制、浸潤・転移抑制が必要である。がんの浸潤・転移が起きるためには適した微小環境が必要で、局所 EMT(epithelial-mesenchymal transition) が強く関与している。この EMT を引き起こす因子の一つとして、近年シグナル伝達機構としての Hippo シグナルカスケード(Hippo signal pathway) が注目されている。Hippo 経路はがん細胞の増殖、浸潤転移に関与していることが解明されたが、更にこの Hippo 経路の上流にタイト結合などの上皮細胞極性調節因子が関与していることも(Grzeschik NA Curr Biol 2010)最近わかったため本研究課題を構築した。

### 2. 研究の目的

Hippo 経路の上流にある細胞間接着装置タイト結合分子の一つである JAM-A は、上皮細胞、内皮細胞及び白血球に発現がみられバリア機能、血管形成及び白血球の遊走などに関与していることが知られている。近年 JAM-A は食道癌や乳癌などで高発現していることが知られているが、頭頸部扁平上皮癌における発現はよく分かっていなかった。そこで今回頭頸部扁平上皮癌における JAM-A の発現パターンを検討することで、最終的には頭頸部扁平上皮癌の確定診断、切除範囲の決定、抗体を用いた分子標的治療の開発に有用である可能性を探索するのが目的である。

### 3. 研究の方法

手術で得られた 6 例の頭頸部扁平上皮癌組織を材料とした。凍結材料を用いた Real time PCR により頭頸部扁平上皮癌における JAM-A の発現を調べた。またパラフィン切片を用いた免疫染色にて頭頸部扁平上皮癌および正常頭頸部組織(口蓋扁桃)の JAM-A の発現の局在変化を調べた。更に頭頸部扁平上皮癌細胞や異型上皮での発現局在パターンを調べた。最後に ELISA 法により頭頸部扁平上皮癌患者とコントロールの血清における JAM-A を比較検討した。

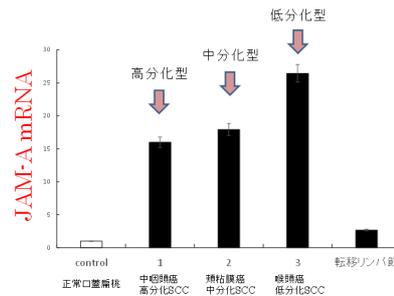
### 4. 研究成果

JAM-A mRNA の発現は対照である正常扁桃の 5 ~ 30 倍の著しい発現増加が認められた。転移リンパ節組織でも発現増加を認めた。また分化度が低くなるほど mRNA 量が増加する傾向にあった(図 1)。

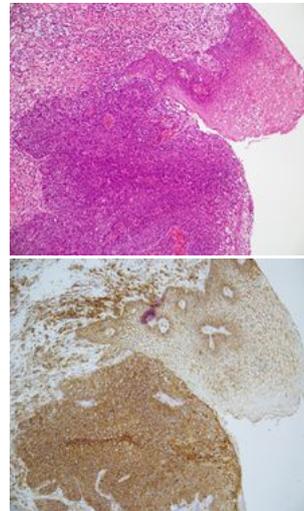
パラフィン切片における免疫染色では JAM-A は SCC 部分で強く染色されており、逆に dysplasia の部分では染色は弱かった(図 2)。次に浸潤部を見てみると同様に JAM-A は染色されていた(図 3)。転移リンパ節においても JAM-A は強く染色されていた(図 4)。

ELISA 法にて頭頸部癌患者とコントロールの血清を比較すると頭頸部癌患者において JAM-A の上昇傾向を認めた。

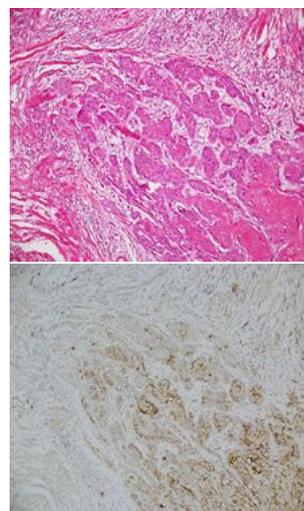
以上の結果の様に JAM-A は頭頸部扁平上皮癌の原発巣、浸潤部、転移巣に高発現しており、癌の確定診断や予後予測、分子標的治療のターゲットとして有用である可能性が示唆された。また血清 JAM-A の上昇は頭頸部扁平上皮癌患者において臨床上腫瘍マーカーとなり得る可能性も示唆された。



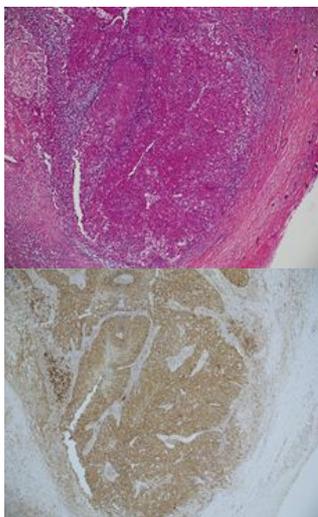
(図 1) Real time PCR



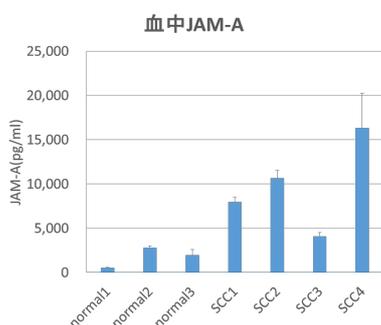
(図 2) 癌及び異型性



(図 3) SCC (浸潤部)



( 図 4 )  
転移リンパ節



( 図 5 ) ELISA 法 血清 JAM-A

## 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 7 件 )

計良宗, 今井良吉, 近藤敦, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 肺大細胞神経内分泌癌扁桃腺転移症例, 耳鼻咽喉科 106 : 41-45, 2013.  
<http://dx.doi.org/10.5631/jibirin.106.41>  
( 査読有 )

山本圭佑, 関伸彦, 近藤敦, 氷見徹夫, 他: 気管切開術を要した甲状腺舌管嚢胞の 1 例, 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 85:633-637, 2013.

<http://top.islib.jp/bcs/ct/medicalfinder/fixedViewPdf.do?isid=1411102579> ( 査読有 )

Nakata K, Sakata KI, Someya M, Miura K, Hayashi J, Hori M, Takagi M, Himi T, Kondo A, Hareyama M: Phase I study of oral S-1 and concurrent radiotherapy in patients with head and neck cancer. Radiat Res 54:679-83, 2013.

DOI:10.1093/jrr/rrs133 ( 査読有 )

Fuchimoto J, Kojima T, Kobayashi N, Ohkuni T, Ogasawara N, Masaki T, Obata K, Nomura K, Kondoh A et al : Hop water extract inhibits double-stranded RNA-induced thymic stromal lymphopoietin release from human nasal epithelial cells. Am J Rhinol Allergy 26:433-8, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.2500/ajra.2012.26.3814> ( 査読有 )

Hayashi J, Sakata KI, Someya M, Matsumoto Y, Satoh M, Nakata K, Hori M, Takagi M, Kondoh A, Himi T, Hareyama M: Analysis and results of Ku and XRCC4 expression in hypopharyngeal cancer tissues treated with chemoradiotherapy. Oncol Lett 4:151-155, 2012.

<http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2012.674> ( 査読有 )

Shiga K, Ogawa T, Kobayashi T, Ueda S, Kondo A et al: Malignant melanoma of the head and neck: a multi-institutional retrospective analysis of cases in northern Japan. Head Neck 34:1537-41, 2012. DOI:10.1002/hed.21984 ( 査読有 )

山下恵司, 近藤敦, 他: 原発性気管腺癌の一例, 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 84 : 663-667, 2012.

<http://top.islib.jp/bcs/ct/medicalfinder/fixedViewPdf.do?isid=1411102257>  
( 査読有 )

[ 学会発表 ] ( 計 12 件 )

近藤敦, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 下咽頭進行癌における手術症例の検討, 日本頭頸部外科学会, 2014 年 1 月 30 日, 高松

實川純人, 近藤敦, 氷見徹夫, 他: G-CSF 産生下咽頭癌の 1 例, 日本口腔咽頭科学会, 2013 年 9 月 12 日 ~ 13 日, 名古屋  
角木拓也, 近藤敦, 氷見徹夫, 他: 当科で治療した副耳下腺腫瘍の検討, 耳鼻咽喉科臨床学会, 2013 年 7 月 11 日, 神戸

近藤敦, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 当科における下咽頭癌の臨床的検討, 日本頭頸部癌学会, 2013 年 6 月 12 日 ~ 13 日, 東京

小幡和史, 近藤敦, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 当科における原発不明転移性頸部癌の検討, 日本頭頸部癌学会, 2013 年 6 月 12 日 ~ 13 日, 東京

黒瀬誠, 近藤敦, 氷見徹夫: 頭頸部扁平上皮癌浸潤・転移における S100A7、タイト結合分子 JAM-A 意義, 日本頭頸部癌学会, 2013 年 6 月 12 日 ~ 13 日, 東京

Kazuaki Nomura, Takashi Kojima, Atsushi Kondo, Tetsuo Himi, et al : Negative regulator S100A7 in tumor progression of head and neck squamous cell carcinoma, 3<sup>rd</sup> congress Asian

Society of Head and Neck Oncology, 2013  
年 3 月 20 日 ~ 22 日, フィリピン

黒瀬誠、近藤敦、氷見徹夫、他：頭頸部  
扁平上皮癌におけるタイト結合分子、転  
写因子の発現, 日本気管食道学会, 2012  
年 11 月 8 日 ~ 9 日, 東京

近藤敦、氷見徹夫、他：小児の副耳下腺  
より発生した腺房細胞癌症例, 日本口腔  
咽頭科学会, 2012 年 9 月 13 日 ~ 14 日,  
熊本

関伸彦、近藤敦、他：大きな嚢胞形成を  
伴った耳下腺 adenomatous ductal  
proliferation の 1 例 日本口腔咽頭科  
学会, 2012 年 9 月 13 日 ~ 14 日, 熊本

山本圭佑、近藤敦、氷見徹夫、他：気管  
切開を要した甲状舌管嚢胞の 1 例, 耳鼻  
咽喉科臨床学会, 2012 年 7 月 5 日 ~ 6 日,  
東京

野村一顕、他：Elastase によるヒト鼻粘  
膜上皮バリア機能への影響, 日本再生・  
炎症学会, 2012 年 7 月 3 日 ~ 4 日, 福岡

〔図書〕(計 1 件)

近藤敦, 渡邊昭彦: 文光堂, 病態・疾患別 が  
ん性痛の治療: 2013, 126-133

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

近藤 敦 (KONDO ATSUSHI)

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号: 40457718