

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：17501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861773

研究課題名(和文) 口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関わる7p、8q、17q上の責任遺伝子の同定

研究課題名(英文) Identification of the responsibility gene on 7p, 8q and 17q about cervical lymph node metastases of oral squamous cell carcinoma.

研究代表者

吉岡 俊一 (YOSHIOKA, SHUNICHI)

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：20599659

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：アレイCGH解析により口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関わる染色体異常領域として7p12、8q24、17q25の領域を同定した。更に口腔扁平上皮癌細胞株16細胞株について網羅的発現解析を行い、7p12、8q24、17q25領域のゲノムコピー数増幅に伴い発現亢進する遺伝子の抽出を行った。抽出された癌遺伝子候補をReal Time PCR法、免疫組織化学法で解析し、レンチウイルスシステムを用いて候補遺伝子発現ウイルスの作製を行い、in vitro、in vivoでの機能解析実験を行っている。

研究成果の概要(英文)：I identified chromosome aberration domain of 7p12, 8q24 and 17q25 by array comparative genomic hybridization analysis about cervical lymph node metastases of oral squamous cell carcinoma. I performed exhaustive gene expression analysis about 16 oral squamous cell carcinoma cell line, and extracted the gene to develop with the genome copy number amplification of the chromosome domain of 7p12, 8q24 and 17q25. I analyzed candidate gene by the Real Time PCR assay and immunohistochemical analysis. I make the candidate gene expression virus by using a lentiviral system, subsequently, I perform a functional analysis experiment.

研究分野：医歯薬学

キーワード：口腔扁平上皮癌 頸部リンパ節転移

1. 研究開始当初の背景

(1) 口腔扁平上皮癌 (Oral Squamous Cell Carcinoma ; OSCC) は国内において癌死亡者数、罹患者数ともに増加傾向である。特に OSCC において、頸部リンパ節転移は生命予後を規定する最も重要な因子である。頸部リンパ節転移のメカニズムを明らかにすることができれば、OSCC の有効な治療法、診断法の開発に貢献できると考えられる。

(2) 近年、癌の発症メカニズムの解明が大きく進み、癌は遺伝子異常の蓄積によって引き起こされると考えられている。その異常遺伝子を標的とした治療薬を用いた分子標的治療薬が急速に進歩している。OSCC においても転移性の OSCC に特徴的な遺伝子異常を同定することで、標的治療薬の開発が可能になると考えた。

2. 研究の目的

(1) OSCC の頸部リンパ節転移に関する責任遺伝子の同定。

(2) 同定した癌遺伝子のシグナル伝達機構の解明し、OSCC の頸部リンパ節転移における新規診断法および治療法の標的分子としての可能性の検討。

3. 研究の方法

(1) 組織検体、OSCC 細胞株のアレイ CGH 解析、網羅的遺伝子発現解析を行い、抽出された遺伝子の発現量を Real Time PCR 法および免疫組織化学法で解析する。発現亢進の認められた遺伝子を候補遺伝子とし、次の機能解析を行う。

(2) レンチウイルスシステムを用いて候補遺伝子発現ウイルスを作製し、候補遺伝子の発現が低下・消失している OSCC 細胞株にウイルス感染させ、候補遺伝子の発現を確認後、MTS アッセイによる細胞増殖能、ヒストン/DNA 断片複合体検出 ELISA キットによる Apoptosis 制御能、FACS Calibur による細胞周期解析、マトリゲルインベーションチャンバーによる浸潤能の変動を調べる。候補遺伝子が過剰発現している OSCC 細胞株には siRNA を導入し、発現抑制後、同様の機能解析を行う。

(3) 発現変化に伴い細胞形質の変動が認められた候補遺伝子について、免疫不全マウスに細胞を同移植し、in vivo による機能解析を行う。

4. 研究成果

(1) 転移性 OSCC の原発巣、転移巣と非転移性 OSCC のゲノム異常の比較により 7p12、8q24、17q25 のゲノム増幅が転移性 OSCC において有意に高頻度に検出された (図 1)。OSCC 細胞 16 株を 7p12、8q24、17q25 ゲノム増幅の有無で振り分け網羅的発現解析を行い、候補遺伝子を抽出した。

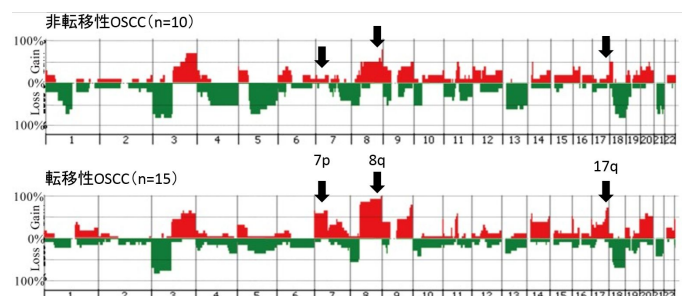


図1 非転移性 OSCC と転移性 OSCC のゲノム異常の比較

(2) 抽出した遺伝子で、発現低下している遺伝子についてはレンチウイルスシステムを用いて発現ウイルスを作製中だが、高力価なウイルスが作製出来ていないため、アデノウイルスやレトロウイルスを用いたウイルスシステムを施行中である。平行して、過剰発現している遺伝子については siRNA にて発現抑制後の機能解析を施行中である。

(3) in vitro での機能解析後、in vivo での解析予定。現在はマウスへの細胞移植の技術を習得中である。

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)

— Yoshioka Shunichi, Tsukamoto Y, Hijiya N, Nakata C, Uchida, T, Matsuura K, Takeuchi I, Seto M, Kawano K, Moriyama M “Genomic profiling of oral squamous cell carcinoma by array-based comparative genomic hybridization.” PLoS ONE, 2013;8(2):e56165

[学会発表](計3件)

— Yoshioka Shunichi, “A Clinical Study on Distant Metastasis of Oral Squamous Cell Carcinoma.” 96th Annual Meeting, Scientific Sessions & Exhibition in conjunction with the Japanese Society and Korean Association of Oral and Maxillofacial

Surgeons (aaoms), 2014.9.11, Honolulu(USA).

— 吉岡俊一、口腔扁平上皮癌の遠隔臓器転移に関する臨床統計、第68回NPO法人日本口腔科学会学術集会、2014.5.9、京王プラザホテル(東京都新宿区)

— 吉岡俊一、Array Comparative genomic Hybridization 解析による口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関わるゲノム異常の探索、九州地区口腔癌研究会第17回学術講演会、2013.6.7、パピヨン24ガスホール(福岡市博多区)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉岡 俊一 (YOSHIOKA Shunichi)

大分大学医学部客員研究員

研究者番号：20599659

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：