

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462613

研究課題名(和文) 上皮細胞極性と器官形成シグナル制御による咽頭がん浸潤・転移抑制因子の探索

研究課題名(英文) Research of the inhibitory factors by regulation of epithelial cell polarity and organogenesis signaling in pharyngeal cancer invasion/metastasis

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：YAPを咽頭扁平上皮がんで見つけたところ全ての癌細胞の核が陽性であった。YAPを介して調節されている3細胞間タイト結合分子LSRを検索したところ、LSRの発現・局在はがんの悪性度ともに変化がみられた。次に上皮細胞極性分子であるPar3およびASPP2の発現をみたところ、一部のがん組織において異形組織より高発現がみられた。さらにHDAC阻害剤を処置した結果Par3およびASPP2の発現増加がん細胞の浸潤および遊走の抑制がみられた。以上のことより咽頭扁平上皮がんの浸潤・転移を抑制するには上皮細胞極性分子であるLSR, PAR3, ASPP2および器官形成シグナルのYAP分子を制御する必要があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The first, in pharyngeal squamous cell carcinomas (PSCC), a hippo pathway key molecule YAP which contributed to organogenesis signaling, was positive in the nuclei of all cancer cells. The changes in expression and localization of LSR (lipolysis-stimulated lipoprotein receptor) which was regulated by YAP were observed during the malignancy. In LSR-knockdown cancer cell line, upregulation of cell invasion and migration was observed. The next, epithelial cell polarity molecules PAR3 and the regulator ASPP2 (apoptosis stimulating proteins of p53-2) were upregulated in PSCC than dysplasia. Inhibitors of HDACs (histone deacetylases) which upregulated in PSCC, induced expression of PAR3 and ASPP2 and inhibited cancer cell invasion and migration. In conclusion, the regulation of epithelial cell polarity molecules LSR, PAR3 and ASPP2 and organogenesis signaling YAP may be an important to prevent invasion/metastasis of PSCC.

研究分野：頭頸部がん

キーワード：咽頭がん 細胞極性 YAP LSR PAR3 ASPP2 HDAC

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, EMT(epithelial-mesenchymal transition) が強く関与している。EMT は一方で発生時の器官形成には不可欠な現象であり, 上皮細胞の細胞極性を変化させながら臓器を形成してゆく。この器官形成制御に関わるシグナル伝達機構として Hippo シグナルがあり, このシグナル機構の制御異常は, 器官形成異常に関与するだけでなく, がん形成・増殖や浸潤・転移, あるいはがん抑制に関与している。器官形成制御シグナルは上皮細胞の極性とも深く関連している。

2. 研究の目的

本研究の目的は, 咽頭がん特に咽頭部扁平上皮がんにおいて, 上皮細胞極性と器官形成シグナル制御に関与し, がん細胞の浸潤・転移を抑制する因子を探索することである。

3. 研究の方法

1) 咽頭部扁平上皮がん組織を用いて, Hippo 経路の重要な分子 YAP, YAP を介して調節されている 3 細胞間タイト結合分子 LSR (lipolysis-stimulated lipoprotein receptor), 上皮極性分子 PAR3, PAR3 を調節している分子 ASPP2 (apoptosis stimulating proteins of p53-2) の発現および局在変化を異形組織とともに観察する。

2) 上皮極性分子であり 3 細胞間タイト結合 LSR とがんの悪性化 (浸潤・遊走) との関係を見るために, 咽頭部扁平上皮がん細胞株 Detroit562 を用いて, siRNA を処置して LSR を発現低下させ, がん細胞の浸潤・遊走能を検討した。さらに, 原発巣からがん細胞を初代培養し, 同様の検討をおこなった。

3) YAP と LSR の発現との関係を見るために, YAP の発現を変化させることができる因子, siRNA, 糖取り込み阻害剤 2-DG, 糖欠乏培地を用いて, 咽頭部扁平上皮がん細胞株 Detroit562 の LSR の発現およびその関連の変化をみた。

4) 咽頭部扁平上皮がんにおいて発現が亢進しているヒストン脱アセチル化酵素(HDAC) に焦点を当て, 咽頭部扁平上皮がん細胞株 Detroit562 を用いて, HDAC 阻害剤を処置し, PAR3 および ASPP2 の発現変化, がん細胞の浸潤・遊走の変化を調べた。

4. 研究成果

1) 咽頭部扁平上皮がん組織において, 全てのがん細胞の核に YAP 陽性がみられた(図 1)。LSR, PAR3, ASPP2 においては, 咽頭部扁平上皮がん組織において, 異形組織より高発現が

認められた。LSR は mRNA レベルからの発現亢進であった。

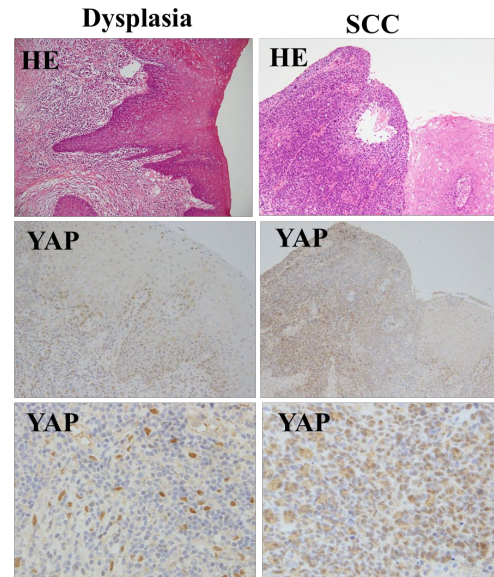


図 1: 咽頭扁平上皮がんにおける YAP の発現

2) 咽頭部扁平上皮がん細胞株 Detroit562 を用いて, siRNA を処置して LSR を発現低下させた結果, がん細胞の浸潤の亢進がみられた。初代培養がん細胞においても同様の変化がみられた

3) 咽頭部扁平上皮がん細胞株 Detroit562 に YAP の siRNA, 糖取り込み阻害剤 2-DG, 糖欠乏培地を前処置した結果, LSR の発現低下によるがん細胞の浸潤・遊走の亢進は抑制されたが, LSR の発現量には変化はみられなかった。

4) HDAC 阻害剤である tricostatin A, HDAC1 特異的阻害剤, HDAC6 特異的阻害剤を咽頭部扁平上皮がん細胞株 Detroit562 に処置した結果, PAR3 および ASPP2 の発現の亢進, がん細胞の浸潤・遊走の抑制がみられた。

以上のことは, 咽頭部扁平上皮がんにおいて, 上皮細胞極性分子 LSR, PAR3 および ASPP2 が, 器官形成シグナル YAP により制御され, がん細胞の浸潤・転移を抑制している可能性が考えられた。

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 7 件)

1. Takano K, Kakuki T, Obata K, Nomura K, Miyata R, Kondo A, Kurose M, Kakiuchi A, Kaneko Y, Kohno T, Himi T, Kojima T. The behavior and role of lipolysis-stimulated

lipoprotein receptor, a component of tricellular tight junctions, in head and neck squamous cell carcinomas. *Anticancer Research* 2016 36:5895-5904. <http://ar.iiarjournals.org/content/36/11/5895.full.pdf+html> (査読有)

2. Kurose M, Kakuki T, Takano K, Kondo A, Obata K, Nomura K, Miyata R, Kaneko Y, Konno T, Kohno T, Kojima T, Himi T. Junctional Adhesion Molecule-A in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Adv. Otorhinolaryngol.* 2016 77:92-97. doi: 10.18632/oncotarget.8432. (査読有)

3. Kakuki T, Kurose M, Takano K, Kondo A, Obata K, Nomura K, Miyata R, Kaneko Y, Konno T, Takahashi S, Hatakeyama T, Kohno T, Himi T, Kojima T. Dysregulation of junctional adhesion molecule-A via p63/GATA-3 in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2016 Mar 28. doi: 10.18632/oncotarget.8432. (査読有)

4. 實川純人, 亀倉隆太, 近藤敦, 関伸彦, 宮田遼, 阿部亜由美, 白崎英明, 氷見徹夫: G-CSF 産生下咽頭癌の 1 例. *耳喉頭頸* 88:157-161, 2016
DOI: <http://dx.doi.org/10.11477/mf.1411200834> (査読有)

5. 高橋希, 高野賢一, 大國毅, 黒瀬誠, 近藤敦, 氷見徹夫: 耳下腺癌肉腫の 1 例. *口腔・咽頭科* 29(1):127-132, 2016
<http://doi.org/10.14821/stomatopharyngology.29.127> (査読有)

6. 近藤敦, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 下咽頭進行癌に対する手術治療症例の検討. *頭頸部外科* 25(1): 9-14, 2015
<http://doi.org/10.5106/jjshns.25.9> (査読有)

7. 近藤敦, 小柴茂, 関伸彦, 高野賢一, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 総頸動脈再建を行った骨髄異形性症候群合併甲状腺乳頭癌症例. *日本気管食道科学会会報* 66(4): 284-290, 2015

<http://doi.org/10.2468/jbes.66.284>(査読有)

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 垣内晃人、角木拓也、高野賢一、金子躍人、黒瀬誠、近藤敦、幸野貴之、氷見徹夫、小島隆 「頭頸部扁平上皮癌における 3 細胞間タイト結合分子 LSR の発現」2016 年 9 月 23-24 日 第 48 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会、くまもと県民交流館パレア(熊本県熊本市)

2. 近藤敦, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 当科における耳下腺癌症例の臨床的検討、平成 28 年 9 月 8~9 日 第 29 回日本口腔・咽頭科学会総会ならびに学術講演会、松江テルサ(島根県松江市)

3. 近藤敦, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 当科における舌扁平上皮癌症例の検討、第 40 回日本頭頸部癌学会 平成 28 年 6 月 9~10 日, ソニックスシティ(埼玉県さいたま市)

4. 角木拓也, 黒瀬誠, 高野賢一, 近藤敦, 小幡和史, 野村一顕, 宮田遼, 金子躍人, 金野匠, 高橋駿太, 畠山翔翼, 幸野貴之, 氷見徹夫, 小島隆: 頭頸部扁平上皮癌における p63/GATA-3 経路によるタイト結合分子 JAM-A の発現メカニズムの解明, 第 47 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会、平成 27 年 9 月 18-19 日, 長崎大学医学部(長崎県長崎市)

5. 角木拓也, 黒瀬誠, 高野賢一, 近藤敦, 小幡和史, 野村一顕, 宮田遼, 金野匠, 高橋駿太, 畠山翔翼, 幸野貴之, 氷見徹夫, 小島隆: 頭頸部扁平上皮癌における p63/GATA-3 経路を介したタイト結合分子 JAM-A の発現調節機構, 第 67 回日本細胞生物学会大会、平成 27 年 6 月 30 日-7 月 2 日, タワーホール船堀(東京都江戸川区)

6. 近藤敦, 小柴茂, 黒瀬誠, 氷見徹夫: 喉頭癌放射線治療後残存再発症例に対する喉頭垂直部分切除術の検討, 第 39 回日本頭頸部癌学会、平成 27 年 6 月 3-6 日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

7. 黒瀬 誠、近藤敦、氷見徹夫：頭頸部手術における V-Loc クローザーデバイスの有用性，第 25 回日本頭頸部外科学会総会・学術講演会、平成 27 年 1 月 29-30 日、コングレコンベンションセンター（大阪府大阪市）

8. Makoto Kurose, Atsushi Kondo, Tetsuo Himi. The Serum Solubilization JAM-A Level of the Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Patient Rises. 第 39 回日本頭頸部癌学会総会 第 4 回アジア頭頸部癌学会。平成 27 年 6 月 3-6 日，神戸国際会議場（兵庫県神戸市）

9. 近藤敦、小柴茂、関伸彦、黒瀬誠、氷見徹夫：総頸動脈再建を行った骨髄異形成症候群合併甲状腺乳頭癌症例，第 66 回日本気管食道科学会、平成 26 年 11 月 13 日～14 日、高知県立県民文化ホール（高知県高知市）

10. 角木拓也、宮田遼、小幡和史、野村一顕、高野賢一、黒瀬誠、近藤敦、氷見徹夫：頭頸部扁平上皮癌細胞株における p63 を介したタイト結合分子 JAM-A の発現調節機構、第 27 回日本口腔咽頭科学会、平成 26 年 9 月 11 日～12 日、ホテルライフオート札幌（北海道札幌市）

11. 小幡和史、角木拓也、宮田遼、野村一顕、高野賢一、黒瀬誠、近藤敦、氷見徹夫：タイト結合分子 JAM-A を用いた頭頸部扁平上皮癌の補助診断への応用、第 27 回日本口腔咽頭科学会、平成 26 年 9 月 11 日～12 日、ホテルライフオート札幌（北海道札幌市）

12. 宮田遼、角木拓也、野村一顕、大國毅、高野賢一、黒瀬誠、近藤敦、氷見徹夫：頭頸部扁平上皮癌における新規 3 細胞間タイト結合分子 LSR の発現、第 27 回日本口腔咽頭科学会、平成 26 年 9 月 11 日～12 日、ホテルライフオート札幌（北海道札幌市）

〔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：
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

近藤 敦 (KONDO ATSUSHI)
札幌医科大学・医学部・講師
研究者番号：40457718

(2) 研究分担者

高野賢一 (TAKANO KENITI)
札幌医科大学・医学部・准教授
研究者番号：70404689

(3) 連携研究者

小島 隆 (KOJIMA TAKASHI)
札幌医科大学・医学部・教授
研究者番号：30260764