

令和元年6月25日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05045

研究課題名(和文) 転移先臓器と癌幹細胞を標的とした機能性RNAによる口腔癌新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel oral cancer treatment with non-coding RNA by targetting metastatic organ and cancer stem cells.

研究代表者

杉浦 剛 (Sugiura, Tsuyoshi)

鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授

研究者番号：40322292

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：癌細胞は蛋白質をコードしない短いRNAを産生し体液中に放出している。口腔癌患者血清と健常人血清を比較することにより、口腔癌特異的microRNAを数種類抽出した。この候補microRNAをそれぞれ40名の口腔癌患者血清と健常人血清について定量的に測定した。この定量データを基に、microRNA測定によって口腔癌の存在、もしくは転移を診断できるか検討した。その結果、癌を見分ける確率67.5%、正常の人を正常と診断できる確率87.5%であり、極めて有用な検査法となることが示された。さらに、手術後に生じる転移を検出することも可能であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果より血清microRNAにより口腔癌が診断できることが明らかとなった。口腔癌には腫瘍マーカーがなく、がん検診のような多数の住民を対象とした場合の第一段検査が無かったが、血液検査陽性個人にのみ第2段の精密検査を行うことを可能とする技術となる。さらに、口腔癌を治療した後の再発や転移についても血液検査により検出が可能である。口腔癌特異的microRNAは遺伝子発現を阻害する機能を持つため、将来的に治療に応用することも可能と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cancer cells produce short non-coding RNA and release to the body fluid. We discovered oral cancer specific microRNAs by comparing serum from normal and oral cancer individuals. These oral cancer specific microRNAs are the candidates for oral cancer biomarkers and we next analyzed quantitatively these microRNAs for each 40 normal and oral cancer serum samples. The oral cancer specific microRNA could diagnose oral cancer (sensitivity 67.5%) and normal individual (specificity 87.5%). This fact suggests the microRNA could be the serum marker for oral cancer.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔癌 microRNA 血清マーカー 癌幹細胞

RNA 2014 2014 RNA

N4KZM... RNA cK84601... mi RNA c... RNA 2014 8v 18y... c30... QOL --KCWI... +X...

RNA... QOL b... RNA c/p... mi RNA... Nat Med. 2012 Jun; 18(6): 883-91: > mi RNA 7<... 3&

Brachyury EMT

ACCs... in vivo selection... ACCS-M (7Ks... ACCS-M... Shimoda M, Sugiura T, BMC Cancer, 2012... (1) ACCS-M... EMT... Ishii K, Shimoda M, Sugiura T. Int J Oncol 2012. > (2) ACCS-M... EMT g2Ac... T-box 3... Brachyury... & Shimoda M, Sugiura T, BMC Cancer, 2012. > (3) ACCS-M... Brachyury... Kobayashi Y, Sugiura T, Int J Oncol, 2014> (4) +MeV... Brachyury... Imajyo I, Sugiura T, Int J Oncol, 2012. > Brachyury... x: U) BWS... +... S

Brachyury Ob KSM... mi RNA... mi RNA... mi RNA... Brachyury DM... mi RNA...

1->%2b2

(1)/pPp- RNA Od+M3K6

30+M\$\$ mi RNA (0/KZu800) mi RNA 3Q 86yb mi RNA b

(2)- mi RNA b+0P2b88p>

+M\$\$ mi RNA ch7KPKZC: +@
+M\$\$ mi RNA b335Guk0
mi RNA 7<yd+M\$ mi RNA W1sCfuz&
DA\$}

(3)Brachyury DM mi RNA +M\$yD\$66yK2>

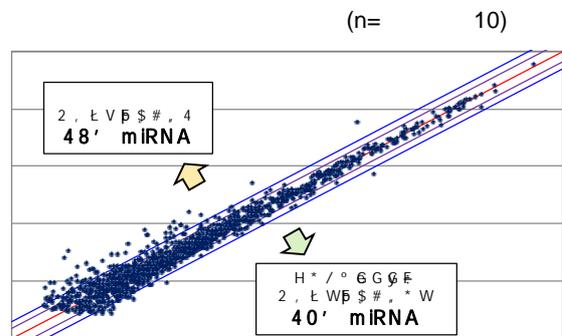
Brachyury c+M\$yb)TArb Brachyury My
bE9Q(y(CyI FKM(U)z
VM In vitro c(y(U)z
3&@U)z
M in vivo c4+X\$
Brachyury Myf

2->%2BÝ

(1)/pPp- RNA ↓

Od+M3K6

q +M\$\$° mi RNA b
7i mi RNA Wsu+M3*
E 10 te 10 p/QRE
K mi RNA mi croarray 8ZM\$\$
\$ mi RNA 7(KSQb)YM\$
Hf 2 V \$KZ 48mi RNA \ 2
V \$KZ 40mi RNA ES
OpP1C6\$5b7@



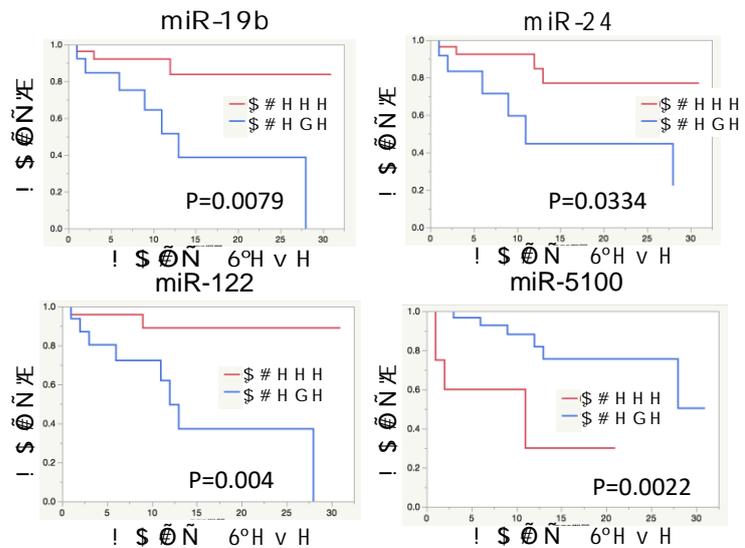
A8vbKZ 15 b mi RNA 4EKS
G4+ mi RNA X8Z I H E / ° 40 40 X8Z real
time PCR 500WS mi R-19a mi R-19b mi R-20a mi R-122 mi R-5100 b 5 _
8ZM\$5b6\$bj1uS+M\$8Z mi R-19a
M8z 0a mi R-122 mi R-5100 [P1uSc\$S
mi croRNA 5 mi croRNA 5M8z a
mi croRNA X8ZK5Z ROC 008
b4V) y%+M\$67KZq4: PK\$ _
+M\$E mi croRNA 5M8Z
M\$y6)+0\$u mi croRNA 6K\$Wb
:U mi R-19a mi R-19b mi R-20a mi R-144 c+M\$Ew.. mi R-122
mi R-183 mi R-423 mi R-5100 c+M\$E1uS
mi croRNA 5S+M\$00(MSu)g(OVSG mi R-24
mi R-20a mi R-122 mi R-150 mi R-4419a mi R-5100 cKZEI+M\$0k
K70B& mi croRNA index00

$$\text{mi croRNA index} = -0.31567 + (0.09049 \times \text{mi R-24}) + (0.21063 \times \text{mi R-20a}) - (0.04705 \times \text{mi R-122}) = (0.08418 \times \text{mi R-150}) + (0.14492 \times \text{mi R-4419a}) = (0.22962 \times \text{mi R-5100})$$

60ES+M6b mi croRNA indexc gE6_ --j@
S (p<0.0001)00 ROC0 mi croRNA indexb 0.517
p0b7b AUC=0.849 =67.5% 10 =87.5% PPV27.1# NPV15.6# E
WZQ\$M\$0(0
r +M\$8° mi RNA b

mi croRNA@ 4
 mi R-19b
 mi R-24
 mi R-122
 mi R-5100
 mi R-423
 mi R-150
 mi R-5100

ROC04: ^



$$\text{microRNA index} = -1.36744 + (0.84173 \times \text{mi R-423}) + (0.27273 \times \text{mi R-150}) - (0.30080 \times \text{mi R-5100}) = (0.13447 \times \text{mi R-423/mi R-150}) + (0.07004 \times \text{mi R-150/mi R-5100})$$

microRNA indexc p
 (p<0.0001) microRNA indexb p 0.608
 0.860 83.3% 80.0% PPV38.5# NPV7.4#
 AUC

2. Brachyury

Brachyury b4
 Brachyury c
 SOX2, c-Myc, KLF4
 Brachyury c
 KLF4, Brachyury c
 Brachyury @
 Brachyury Ig
 SOX2, Oct4, KLF4
 (P=0.002, P=0.031, P=0.003 and P=0.007)
 P=0.014 and P=0.012
 S
 Brachyury 4
 Brachyury @
 ACCSM
 2 Xb 4G b _
 q(07 g2A
 s8j r42n+i
 M s8j s4+X6 3PMs8j X8Z
 (1) EMT 644
 Sphere forming Assay
 KSG BRACHYURY SOX2 QR
 FIBRONECTIN x T
 EMT g2A
 ACCSM \ b:=r[1 S
 (2) 42n+ Wound healing assay
 BRACHYURY SOX2 c
 ACCS (yb 42n+ + 410S
 (3) 4+X6
 BRACHYURY
 SOX2 @ EMT g2A
 D IS
 38y b

b) 6M 4G c(\$ 5P KZ- W\$ \$
 \$ bB+@ 3eS (Akimoto et al. Int J Mol Sci, 2018)
 3 >\$1=e ...
 7\$1=0E 6 6

- 1) Akimoto, N., K. Nakamura, H. Hijioka, K. Kume, Y. Matsumura, and T. Sugiura: Transfection of T-Box Transcription Factor BRACHYURY and SOX2 Synergistically Promote Self-Renewal and Invasive Phenotype in Oral Cancer Cells. International journal of molecular sciences, 19. 2018. (1w)
- 2) Ishibashi, K., K. Ishii, G. Sugiyama, T. Sumida, T. Sugiura, Y.U. Kamata, K. Seki, T. Fujinaga, W. Kumamaru, Y. Kobayashi, N. Hiyake, H. Nakano, T. Yamada, and Y. Mori: Deregulation of Nicotinamide N-Methyltransferase and Gap Junction Protein Alpha-1 Causes Metastasis in Adenoid Cystic Carcinoma. Anticancer research, 38, 187-197. 2018. (1w)
- 3) Hayashi, K., T. Ikari, G. Sugiyama, T. Sugiura, Y. Ohyama, W. Kumamaru, K. Shirasuna, and Y. Mori: Involvement of the T-box transcription factor Brachyury in early-stage embryonic mouse salivary gland. Biochem Biophys Res Commun, 477, 814-819. 2016. (1w)
- 4) Kawano, S., Y. Zheng, K. Oobu, R. Matsubara, Y. Goto, T. Chikui, T. Yoshitake, T. Kiyoshima, T. Jinno, Y. Maruse, E. Mitate, R. Kitamura, H. Tanaka, T. Toyoshima, T. Sugiura, and S. Nakamura: Clinicopathological evaluation of pre-operative chemoradiotherapy with S-1 as a treatment for locally advanced oral squamous cell carcinoma. Oncology letters, 11, 3369-3376. 2016. (1w)
- 5) Shibuya, M., T. Ikari, G. Sugiyama, Y. Ohyama, W. Kumamaru, K. Nagano, T. Sugiura, K. Shirasuna, and Y. Mori: Efficient regulation of branching morphogenesis via fibroblast growth factor receptor 2c in early-stage embryonic mouse salivary glands. Differentiation: research in biological diversity. 2016. (1w)
- 6) Yoshihama, R., K. Yamaguchi, I. Imajyo, M. Mine, N. Hiyake, N. Akimoto, Y. Kobayashi, S. Chigita, W. Kumamaru, T. Kiyoshima, Y. Mori, and T. Sugiura: Expression levels of SOX2, KLF4 and brachyury transcription factors are associated with metastasis and poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. Oncology letters, 11, 1435-1446. 2016. (1w)

11 6

- 1) p\$ ① _____ [_____]: Od 血 microRNA 用 □ / 鹿
 2b6\$ 11 G □ 2018.12.8 鹿
- 2) p\$ ① _____ [_____]: □ 方 30 鹿
 大 齒 2018.11.17 鹿
- 3) p\$ ① _____ [_____]: Od 血 microRNA ↓ □ 皮 63 鹿
 K2 人日 □ 大 2018.11.2-4 -%w
- 4) p\$ ① _____ [_____]: Detecting oral squamous cell carcinoma by novel serum microRNA panel 8\$ 77 G 日 2018.9.27-29 大
- 5) p\$ ① _____ [_____]: □ 皮 用 血 microRNA b0\$ 29 G
 #X\$2U 2018.4.26 鹿
- 6) p\$ ① _____ [_____]: Novel serum microRNAs specific for oral squamous cell carcinoma: its usefulness for early detection 8\$ 76 G 日 2017.9.28-30 w
- 7) p\$ ① _____ [_____] 8 +MeV 鹿 /° microRNA: \$blb
 ① f Novel serum microRNAs specific for oral squamous cell carcinoma: its usefulness for early detection 8\$ 76 G 鹿 2017 " 9 v 28 % 30 ¥ & 鹿
- 8) p\$ (7M ① _____ [_____] 8 +MeV 鹿 /° microRNA b0\$ 鹿
 8 9 鹿 2016 " 12 v 10 ¥ ; 鹿
- 9) p\$ (7M ① _____ [_____] 8 +MeV 鹿

microRNA bdf 61

2016 " 11 v

25, 26, 27 ¥ -%w

10) Koudai Nakamura, Naomi Hiyaake, Tomofumi Hamada, Tsuyoshi Sugiura

Combination of serum microRNAs for biomarker in oral squamous cell carcinoma

75 r 2016 " 10 v 6, 7, 8 ¥ w

11) pS [8+MeV6K/° mi croRNA bh(ô

70 G NPO 2 ¥ M 2016 " 4 v 16, 17 ¥ & w

12) pS [8+MeV6/° mi croRNA bb0\$

0 34 M+X S r 29

2016 " 1 v 21, 22 ¥ w

W&E 1 ó

í [8 75 S a q S) z

CMC & 2019>

~~W&E~~

W&E 1 ó

+M8/ M82 M+M8u

pS [8

<8 V

88i 10`

\$ 108" 2018-203289

88 B 30 "

W98 \

W&E 0 ó

~~W&E~~

~~W&E~~

<8

88i

\$

v 8

W98

QbÚ

Û.

4> %2))°

(1)%2(*

%2(# Ô

Hamada Tomofumi

d%2pB ;

48 Q&S7T

* p 1n

%2& 8 B> 00444894

%2(k î

Kumamaru Wataru

d%2pB Û

48 S7T

p 1n

%2& 8 B> 90432947

(2)%2 *

K