

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 20 日現在

機関番号：10101
研究種目：基盤研究（A）
研究期間：2008～2011
課題番号：20249079
研究課題名（和文） 口腔癌幹細胞と癌の微小環境の細胞生物学的特異性を標的にした治療法の開発
研究課題名（英文） Experiments to innovate therapy targeting the cellular peculiarity of oral cancer stem cell and microenvironment.
研究代表者
戸塚 靖則（TOTSUKA YASUNORI）
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：00109456

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学
キーワード：口腔がん、がん幹細胞、がん微小環境、EMT

1. 研究計画の概要

がんは遺伝子異常を背景としたがん細胞の異常増殖よりなるがん実質とがん細胞に酸素や栄養を供給する間質よりなり、これまで、間質に存在する血管や結合組織は正常細胞であると考えられてきた。

我々は、がんの「間質」に存在する腫瘍血管内皮細胞が正常血管内皮細胞とは異なった遺伝子背景をもつことを明らかにしてきた。近年、発生における器官形成、がん細胞の浸潤や線維症などの発症に、上皮細胞が間葉系細胞様細胞へ形態変化する上皮間葉移行の重要性が報告されている。がん細胞の浸潤・転移にも間葉系組織とのクロストークがある可能性や染色体の不安定性との関わりが示されている。上皮性の口腔扁平上皮がん細胞と間葉系細胞の相互作用を検索することで、がん細胞のみならず腫瘍に栄養・酸素を供給することで腫瘍の生存や増殖に関わっている、いわゆる間質細胞をターゲットにした効率的な治療法の確立にも寄与することが期待される。

2. 研究の進捗状況

Cancer stem cell は抗がん剤に対する抵抗性を示すことが報告されている。HSC3 をシスプラチン高濃度短時間処理を行い、シスプラチン抵抗株（HSC3res）を分離した。HSC3 と HSC3res を用いた DNA マイクロアレイを行い、発現に差のみられる遺伝子を同定した。

上記遺伝子の発現を real-time RT-PCR および Western blot で検索するとともに、実際の口腔がん組織での発現について免疫染色を行い検討した。その結果、抗がん剤に感受性の低かった腫瘍での発現が認められ、同定した遺伝子/遺伝

子産物の治療における有用性が示唆された。さらに、AU-rich element (ARE) mRNA の安定性に関する HuR タンパクが、口腔がんの発症、進展に関与している可能性を明らかにし、口腔がんの stem cell で HuR ががん化を誘導する可能性が生じてきた。HuR はがんの微小環境においても、がん間質に存在する腫瘍血管で発現が亢進し、ARE mRNA である VEGF や Cox2 の発現を誘導していることも明らかになった。さらに、HuR をノックダウンすることで、がんの悪性度が減少することも明らかになり、HuR を分指標的とした治療法の可能性が示唆された。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。
(理由)

当初の計画と概ね一致した進捗状況であるが、さらに腫瘍の微小環境との関連性ができてきたため、あと 1 年の研究期間内により大きな成果が上げられる可能性が出てきた。

4. 今後の研究の推進方策

(1) これまでの検索で、HuR の発現が口腔がん stem cell と深く関わっていることが明らかになってきたが、口腔がんおよび前がん病変での HuR の発現を検索する。

(2) in vitro 三次元培養を用いて腫瘍間質細胞（線維芽細胞・血管内皮細胞）による Ras を導入した上皮前がん細胞の形質転換について検索を行う。

(3) 腫瘍血管内皮細胞に対するがん細胞の影響について、免疫染色で確認する。また、SDF-1 などの niche に関与する遺伝子/遺伝子産物の発現について RT-PCR により

検索する。

(4) HuR の siRNA をヘアピンループ構造で発現するような遺伝子を組み込んだ siRNA のデリバリーシステムを構築し、ヌードマウスに口腔がん細胞を移植し、間質細胞との相互作用を検索する。

5. 代表的な研究成果

(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 14 件)

1. Kuroshima T, Aoyagi M, Yasuda M, Kitamura T, Jehung JP, Ishikawa M, Kitagawa Y, Totsuka Y, Shindoh M, Higashino F: Viral mediated stabilization of AU-rich element containing mRNA contributes to cell transformation. *Oncogene*, in press, 2011. (査読有り)
2. Kurosu T, Ohga N, Hida Y, Maishi N, Akiyama K, Kakuguchi W, Kuroshima T, Kondo M, Akino T, Totsuka Y, Shindoh M, Higashino F, Hida K: HuR keeps on angiogenic switch on by stabilizing mRNA of VEGF and COX-2 in tumor endothelium. *Br J Cancer*, 104:819-829, 2011. (査読有り)
3. Kakuguchi W, Kitamura T, Kuroshima T, Ishikawa M, Kitagawa Y, Totsuka Y, Shindoh M, Higashino F: HuR knockdown changes the oncogenic potential of oral cancer cells. *Mol Cancer Res*, 8:520-528, 2010. (査読有り)
4. Matsuda K, Ohga N, Muraki C, Kurosu T, Tsuchiya K, Akino T, Shih SC, Totsuka Y, Klagsbrun M, Shindoh M, Hida K: Isolated tumor endothelial cells maintain specific character during long-term culture. *Biochem Biophys Res Commun*, 394:947-954, 2010 (査読有り)
5. Hasegawa H, Kakuguchi W, Kuroshima T, Kitamura T, Tanaka S, Kitagawa Y, Totsuka Y, Shindoh M, Higashino F: HuR is exported to the cytoplasm in oral cancer cells in a different manner from that of normal cells. *Br J Cancer*, 100:1943-1948, 2009 (査読有り)

[学会発表] (計 25 件)

1. 格口 渉、東野史裕、北村哲也、戸塚靖則、進藤正信: RNA結合タンパクHuRと口腔がんの浸潤活性との関連. 第 69 回日本癌学会総会 2010/9/22 大阪
2. 山田珠希、津田真寿美、戸塚靖則、進藤正信、大場雄介: RANKL発現は腫瘍形成とEMTを亢進する. 第 69 回日本癌学会総会 2010/9/22 大阪
3. Ohga N, Hida Y, Tsuchiya K, Muraki C, Akiyama K, Kondo M, Maishi N, Kurosu T, Ohno Y, Totsuka Y, Shindoh M, Hida K: Inhibitory effects of epigallocatechin-3 gallate, a polyphenol in green tea, on tumor-associated endothelial cells. 第 68 回日本癌学会総会 2009/10/1 横浜
4. Kurosu T, Ohga N, Higashino F, Hida Y, Kakuguchi W, Kuroshima T, Akino T,

Ishikawa S, Akiyama K, Totsuka Y, Shindoh M, Hida K: Tumor endothelial cells upregulate COX-2 and VEGF-A, ARE-containing mRNAs which are associated with HuR. 第 68 回日本癌学会総会 2009/10/3 横浜

5. 格口 渉、長谷川博一、戸塚靖則、進藤正信、東野史裕: RNA結合タンパクHuRのノックダウンによるがん治療の可能性. 第 98 回日本病理学会総会 2009/5/2 京都
6. 田中宗一、北村哲也、東野史裕、樋田京子、戸塚靖則、進藤正信: Pim-1 は TRAF2, ASK-1 と相互作用し JNK を一過性に活性化する. 第 31 回日本分子生物学会年会、第 81 回日本生化学会大会合同大会 2008/12/9 神戸
7. Totsuka Y, Kitamura T, Hida K, Higashino F, Shindoh M: Inorganic polyphosphate (poly-P) induces EGF-mediated cell proliferation by activating ERK phosphorylation. The 13th World Congress on Advances in Oncology and 11th International Symposium on Molecular Medicine. 2008/10/9 Hersonissos, Crete, Greece

[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]