

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20592007

研究課題名（和文） 頭頸部癌抗癌剤耐性における網羅的マイクロ RNA プロファイリング

研究課題名（英文） MicroRNA profiling in drug-resistant head and neck cancer cells.

研究代表者

折館 伸彦 (ORIDATE NOBUHIKO)

北海道大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：90312355

研究成果の概要（和文）：マイクロ RNA は細胞中に存在し、より大きなサイズを持つヘアピン構造の前駆体から切り出される 22 塩基程度の 1 本鎖 RNA で、癌から代謝や発生、分化にいたるまでの多くの重要な生物学的プロセスに関与するとされる。本研究では抗癌剤耐性頭頸部癌細胞株を用いて網羅的マイクロ RNA プロファイリングを行い、感受性細胞と耐性細胞の間に発現差の認められたマイクロ RNA を同定した。

研究成果の概要（英文）：MicroRNA profiling was performed between the anticancer drug sensitive- and resistant- head and neck cancer cells to identify microRNAs associated with drug resistant mechanisms.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉医科学

キーワード：マイクロ RNA

1. 研究開始当初の背景

タンパク質をコードしていない小 RNA であるマイクロ RNA が転写後の遺伝子発現制御に関わっていることが近年明らかになり、遺伝子発現の包括的な研究における新たな分野として注目されている。

マイクロ RNA はより大きなサイズを持つヘアピン構造の前駆体から切り出される 22 塩基程度の 1 本鎖 RNA であり、翻訳の阻害やターゲット mRNA の安定性に影響を及ぼすことで、遺伝子発現をマイナスに制御する。

ヒトでは数百種類のマイクロ RNA の存

在が報告されており、それぞれのマイクロ RNA が複数のターゲット遺伝子を制御しているとされる。

その結果として発生、分化、代謝、アポトーシス、増殖などの多くの重要な生物学的プロセスの制御に関与していることが明らかになりつつある。

マイクロ RNA の潜在的な役割についての近年の報告では、悪性組織と正常組織におけるマイクロ RNA の発現量が異なることから、腫瘍形成にマイクロ RNA が役割を担っていると考えられる。

また、マイクロ RNA の発現パターン解析が腫瘍の予後予測と治療法選択に役立つ可能性が示唆されていることから、頭頸部癌および抗癌剤耐性に関わるマイクロ RNA の発現解析を行うことは、臨床上有意義であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、これまで我々の行ってきた抗癌剤耐性についての基礎的研究および臨床サンプルを用いた放射線化学療法の予後因子についての臨床的研究の手法を活かして、ドセタキセル耐性頭頸部癌細胞株におけるマイクロ RNA プロファイリングを行い、抗癌剤耐性に関与するマイクロ RNA 発現パターンを同定することである。

3. 研究の方法

北海道大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座では、喉頭扁平上皮癌細胞株 HEP2 から樹立した、シスプラチン耐性 HEP2 細胞株およびドセタキセル耐性 HEP2 細胞株を用いて、シスプラチンおよびドセタキセル耐性の機序についての研究を進める一方 (Head Neck. 25: 187-93, 2003, Oncogene 2007 E-pub ahead)、国内に先駆けて機能・形態の温存を目的とした放射線・化学療法の同時併用療法を行い、その治療効果を予測する分子生物学的因子を明らかにしてきた (Clin. Cancer

Res. 5:801-6, 1999, Cancer J 10: 326-332, 2004, Oncol Rep 13: 59-64, 2005, Head Neck. 29:940-7, 2007)

ドセタキセル感受性/耐性細胞間のマイクロ RNA 発現差異の検討は、以下の方法で行った。

- (1) 感受性細胞および耐性細胞からマイクロ RNA 画分を含むトータル RNA を分離
- (2) トータル RNA からマイクロ RNA を含むスモール RNA 分画を分離
- (3) マイクロ RNA 用に開発された特異的なステムループ構造を持つ逆転写プライマーセットを用いて各群でのマイクロ RNA を増幅。
- (4) 網羅的マイクロ RNA アッセイをによりマイクロ RNA プロファイリングを施行
- (5) 感受性細胞および耐性細胞に特異的なマイクロ RNA を複数同定

4. 研究成果

ドセタキセル感受性細胞には発現せず耐性細胞のみに発現しているマイクロ RNA として、以下を同定した。

hsa-miR-218
hsa-miR-424*
hsa-miR-520h
hsa-miR-526b*
hsa-miR-550*
hsa-miR-629*
hsa-miR-767-5p
hsa-miR-875-5p
hsa-miR-93*.

このうち hsa-miR-218 は子宮頸癌細胞にてヒト乳頭腫ウイルス 16 型感染によりその発現が低下することや、非小細胞性肺癌においてしばしば低発現あるいは欠損しており、Paxillin の発現制御を介して腫瘍悪性度に関与する可能性が報告されている。

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 9 件)

- ① Onimaru R, Hasegawa M, Yasuda K, Homma A, Oridate N, Fukuda S, Shirato H : Radiotherapy for glottic T1N0 carcinoma with slight hypofractionation and standard overall treatment time: importance of overall treatment time. Jpn J Clin Oncol,41, 103-109, 2011 年, 査読有
- ② Homma A, Sakashita T, Oridate N, Suzuki F, Suzuki S, Hatakeyama H, Mizumachi T, Taki S, Fukuda S, : Importance of comorbidity in hypopharyngeal cancer. Head Neck, 32, 148-153, 2010 年, 査読有
- ③ Taki S, Homma A, Oridate N, Suzuki S, Suzuki F, Sakashita T, Fukuda S : Salvage surgery for local recurrence after chemoradiotherapy or radiotherapy in hypopharyngeal cancer patients. Eur Arch Otorhinolaryngol, 267, 1765-1769, 2010 年, 査読有
- ④ 水町貴諭、瀧 重成、加納里志、原 敏浩、鈴木章之、鈴木清護、本間明宏、折館伸彦、福田 諭、古田 康：頭頸部癌におけるヒト乳頭腫：頭頸部癌とヒト乳頭腫ウイルス(HPV) 頭頸部癌におけるヒト乳頭腫ウイルスによる発癌のメカニズムと検出について. 頭頸部癌、35、356-359、2009 年、査読有
- ⑤ Oridate N, Homma A ,Suzuki S, Nakamaru Y, Suzuki F, Hatakeyama H, Taki S, Sakashita T, Nishizawa N, Furuta Y, Fukuda S : Voice-related quality of life after treatment of laryngeal cancer. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 135, 363-368, 2009 年, 査読有
- ⑥ Homma A ,Oridate N, Suzuki F, Taki S, Asano T, Yoshida D, Onimaru R, Nishioka T, Shirato H, Fukuda S. : Superselective high-dose cisplatin infusion with concomitant radiotherapy in patients with advanced cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses: a single institution experience. Cancer,115, 4705-4714, 2009 年, 査読有
- ⑦ Oridate N, Nishizawa N, Fukuda S : The diagnosis and management of globus: a perspective from Japan. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, 16, 498-502, 2008 年, 査読無
- ⑧ Oridate N, Homma A, Higuchi E, Suzuki F, Hatakeyama H, Mizumachi T, Furusawa J, Taki S, Furuta Y, Fukuda S : p53 expression in concurrent chemoradiotherapy with docetaxel for head and neck squamous cell carcinoma. Auris Nasus Larynx, 36,57-63, 2008 年, 査読有
- ⑨ Furusawa J, Oridate N , Suzuki F ,Homma A, Furuta ,Fukuda S :Initial CT findings in early tongue and oral floor cancer as predictors of late neck metastasis. Oral Oncol, 44,793-797, 2008 年, 査読有

〔学会発表〕 (計 3 件)

- ① Mizumachi T : Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer in Japan. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma in Japan . 114th American Academy of ORL-HNS Annual Meeting & OTO EXPO, 2010年9月26日～29日, ボストンコンベンションセンター (米国・ボストン)
- ② 瀧 重成：喉頭癌に対する超選択的動注併用放射線療法の治療成績. 第33回日本頭頸部癌学会、第30頭頸部手術手技研究会、2009年6月12日、ロイトン札幌

(札幌市)

- ③ Oridate N, Homma A, Suzuki S, Nakamaru Y, Suzuki F, Hatakeyama H, Taki S, Sakashita T, Nishizawa N, Furuta Y, Fukuda S : Voice-Related Quality of Life after Treatment for Laryngeal Cancer. The 7th International Conference on Head and Neck Cancer, 2008年7月20日,
マリオットホテル(San Francisco)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

折館 伸彦 (ORIDATE NOBUHIKO)
北海道大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：90312355