

機関番号：32622

研究種目：若手研究 B

研究期間：2009～2010

課題番号：21792030

研究課題名（和文）低酸素による口腔扁平上皮癌細胞の脱分化誘導機序の解析

研究課題名（英文） The induction of dedifferentiation by hypoxia in OSCC cell lines.

研究代表者

大橋 勝 (DHASHI MASARU)

昭和大学・歯学部・兼任講師

研究者番号：40317524

研究成果の概要（和文）：

近年、癌が幹細胞能力と癌形成能を併せもつ少数の幹細胞様癌細胞（癌幹細胞）により形成・維持されていることが明らかにされてきた。癌幹細胞はさまざまな抗癌剤や放射線療法に抵抗性を示し、癌再発の原因細胞であると報告されている。その為、現在癌幹細胞は重要な治療標的と考えられている。また近年、腫瘍内の低酸素環境が癌幹細胞の stemness の維持に関わっていることが報告されている。本研究では低酸素による口腔扁平上皮癌細胞の脱分化現象について検討をおこなった。

研究成果の概要（英文）：

Recent data suggest that a rare subpopulation of cancer cells, termed cancer stem cells (CSCs), is capable of initiating, maintaining, and expanding the growth of tumor. Furthermore, these CSCs are considered a major cause of tumor recurrence after conventional therapy due to their resistance against chemo- and radio-therapeutic modalities. Thus, CSCs represent a critical therapeutic target. Recently, a number of studies have demonstrated that hypoxic tumour microenvironment controls tumour stem cells. In this study, we investigated the induction of dedifferentiation by hypoxic condition in OSCC cell lines.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	1,751,000
2010 年度	1,600,000	480,000	1,648,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	3,399,000

研究分野：口腔外科

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：低酸素、癌幹細胞、ニッチ

1. 研究開始当初の背景

癌組織は多様な細胞によって構成されているが、近年、そのなかに正常組織幹細胞と同様に自己複製能と多分化能といった特徴をもつ細胞—癌幹細胞の存在が明らかになり、これらの細胞が、分裂・増殖、あるいは分化

することで腫瘍形成を維持していくものと考えられている。癌幹細胞はさまざまな抗癌剤や放射線療法に抵抗性を示し、癌再発の原因細胞であると報告されている。またその性質はニッチと呼ばれる特別な微少環境によって維持されていると考えられている。

現在、腫瘍形成の根本となる癌幹細胞を標的とした新たな治療の出現が望まれているが、癌幹細胞を特異的に殺傷できる方法の開発には癌幹細胞の性状やそのニッチを正確に理解することがきわめて重要だと考えられる。

2. 研究の目的

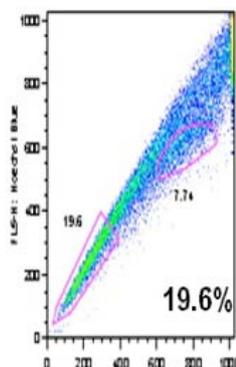
癌組織内では血管構築の遅延や異常、組織内圧による微小血管の血流不足のため酸素濃度がきわめて低い領域が生じる。低酸素下の癌細胞は抗癌剤に抵抗性であることが以前から知られている。この低酸素下癌細胞の性質は癌幹細胞と類似している点が多く、腫瘍内の低酸素領域が癌幹細胞のニッチになっているという知見が得られてきている。本研究では口腔扁平上皮癌細胞の低酸素による癌幹細胞への脱分化誘導の機序を解析し、ニッチとしての低酸素を標的とした新たな癌幹細胞治療の開発を試みる。

3. 研究の方法

口腔扁平上皮癌細胞

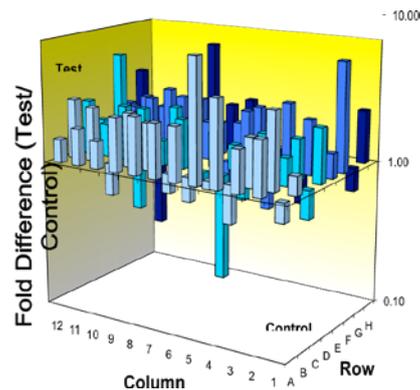
(Tosca23S, Tosca24, Tosca55)を DNA 結合色素ヘキスト 33342 で染色し、フローサイトメトリーを用いて SP 細胞と non-SP 細胞をソーティングにより分離した。その中で特に SP 細胞分画が多かった Tosca23S を用いて、ソーティングより得た SP 細胞より total RNA を抽出した。human Stem Cell RT² profiler arrays を使用して幹細胞関連遺伝子の発現を網羅的に解析した。次に細胞を Hypoxia workstation Inivo2 (Ruskin)内で 1%O₂ 下で培養し脱分化を誘導する。低酸素培養細胞より total RNA を抽出し、Real-time PCR を行い幹細胞関連遺伝子の発現変化を解析、低酸素培養癌細胞が癌幹細胞の性質を有しているかを確認した。

4. 研究成果

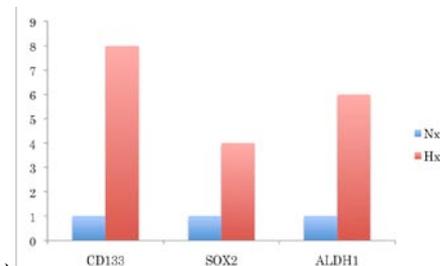


Tosca23S, Tosca24, Tosca55 をヘキスト 33342 で染色し、フローサイトメトリーを用いて SP 細胞分画を測定したところ、

Tosca23S で 19.6%、Tosca24 で 4.11%、Tosca55 で 0.1%の SP 細胞が認められた。



Tosca23S の SP 細胞分画より total RNA を抽出し、幹細胞関連遺伝子について網羅的に解析したところ、SOX2、ALDH1、CD133 が高発現していることが確認できた。



次に CD133、SOX2、ALDH1 の発現を解析したところ、低酸素培養細胞は常酸素培養細胞と比べ上記遺伝子が高発現しておりことが確認できた。これらのことより低酸素環境下での口腔扁平上皮癌細胞の脱分化誘導の可能性が示唆された。この脱分化現象と HIF との関連未は不明であり、今後の検討すべき課題である。

なお、本研究の結果は、本年度の学会に発表予定である。

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 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔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◇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

大橋 勝 (MASARU OHASHI)
昭和大学・歯学部・兼任講師
研究者番号：40317524

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

南雲 達人 (TATSUHITO NAGUMO)
昭和大学・歯学部・助教
研究者番号：70555078