

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 4 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861742

研究課題名(和文) MIA gene familyシグナルによる口腔癌の診断・治療の新展開

研究課題名(英文) Novel strategy for molecular diagnosis and treatment in oral cancer by MIA gene family signaling pathway.

研究代表者

栗原 都 (Kurihara, Miyako)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・診療助教

研究者番号：40453170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌におけるMIA gene family関連シグナルとしてSTOX2を同定した。STOX2はMIAにより発現制御されることで、口腔癌の増殖・浸潤・アポトーシス抵抗性ならびに抗癌剤耐性に関与していた。凍結検体を用いた遺伝子発現解析では正常と比較して口腔癌でSTOX2は高発現しており、その発現レベルはMIAの発現レベルとよく相関していた。口腔癌202例を用いた免疫染色では、STOX2の発現はリンパ節転移ならびにMIAの発現の有無と相関していた。またMIAないしSTOX2発現症例は有意に予後不良であった。STOX2は口腔癌の新たな分子標的となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we determined that MIA facilitates STOX2 expression. In vitro analysis using OSCC cells revealed that MIA siRNA decreased expression of STOX2. Moreover, STOX2 accelerated OSCC cell growth, invasion, suppressed apoptosis, and enhanced resistance to paclitaxel, cisplatin, and 5-FU. MIA and STOX2 mRNA levels were higher in OSCCs than in normal oral epithelial cells, and upregulation of STOX2 was significantly correlated with overexpression of MIA. In 202 OSCC specimens, immunostaining for STOX2 was associated with nodal metastasis and MIA expression. Furthermore, MIA expression and STOX2 expression were associated with poor outcome in OSCCs. Our results suggest that MIA-STOX2 signaling may be a useful diagnostic and therapeutic target in OSCCs.

研究分野：外科系歯学

キーワード：口腔癌 MIA gene family 浸潤・転移

### 1. 研究開始当初の背景

口腔癌は局所進展性やリンパ節転移能が高く、進行症例として発見されるときわめて予後不良である。また術後に味覚・咀嚼・嚥下・発音・構音といった機能や審美性の著しい低下を余儀なくされるため、早期発見、治療が重要となる。口腔癌の腫瘍マーカーとして SCC 抗原、CEA、CYFRA 等が用いられているが感度・特異度が高くない点が大きな問題である。また口腔癌に対する有用な分子標的薬は、現状においては議論の余地が多い。従って口腔癌を早期発見・治療するための分子マーカーの検索が急がれる。

### 2. 研究の目的

申請者らは口腔癌の新規マーカーとして MIA gene family を同定している。MIA gene family には MIA 以外に MIA2、TANGO 等が存在しそれぞれ類似の構造を有するが、その機能においては異なる点が多い。今回、申請者らは、口腔癌における MIA gene family および関連シグナルの更なる詳細な機能解析を行い、さらに他臓器のがんでの発現状況を調べることで口腔癌特異的な診断マーカーおよび治療標的としての有用性を模索したいと考えている。特に血清および唾液マーカーとして有用であれば、簡便かつ低侵襲な口腔癌の悪性度診断への臨床応用が期待される。

### 3. 研究の方法

本研究の主な方法は下記の通りである。

口腔癌細胞株を用いて、口腔癌における MIA gene family に関連した新規マーカーの機能を解析する。

口腔癌検体ならびにコントロールとして正常口腔粘膜を用いて、免疫組織化学ならびにリアルタイム RT-PCR により MIA gene family に関連した新規シグナルが口腔癌特異的な診断、治療マーカーとなり得るか臨床検体を用いて検討する。

### 4. 研究成果

1) マイクロアレイにより MIA gene family に関連した新規マーカーとして STOX2 を見出した。STOX2 は STOX1 と相同性が高いと考えられているが、がんにおける詳細な機能は不明である。そこで口腔癌細胞株における STOX2 の機能を解析した。浸潤能・転移能を有する口腔癌細胞株において STOX2 は高発現しており、MIA の発現レベルとよく相関していた。また MIA のノックダウン処理により STOX2 の発現は低下し、MIA はパラクライン機構によって STOX2 の発現を制御することが明らかとなった。

2) 口腔癌細胞株を用いた機能解析では、STOX2 は口腔癌の増殖、浸潤、アポトーシス抵抗性に関与していた。さらに 5-FU、シスプラチン、パクリタキセルに対する抗癌剤耐

性の獲得にも関わることが明らかとなった。

3) 凍結材料を用いたリアルタイム RT-PCR により STOX2 と MIA の発現レベルを測定したところ、正常口腔粘膜、上皮内癌、浸潤癌となるにつれてその発現は有意に上昇していた(図 1A、B)。さらに STOX2 と MIA の遺伝子発現レベルの間には正の相関を認めた(図 1C)。202 症例の口腔癌材料を用いて免疫組織化学を施行した。正常口腔粘膜で MIA の発現は認めなかったが、口腔癌での陽性率は 42.1% (85/202) であった(図 1C、D)。また正常口腔粘膜において STOX2 の発現はきわめて軽微ないし陰性であったが、口腔癌 58 症例(28.7%)の細胞質に STOX2 の発現を認めた(図 1E、F)。さらに STOX2 は口腔癌周囲の形質細胞にも発現していた(図 1G、H)。なお STOX2 の発現はリンパ節転移の有無ならびに MIA の発現と相関していた。

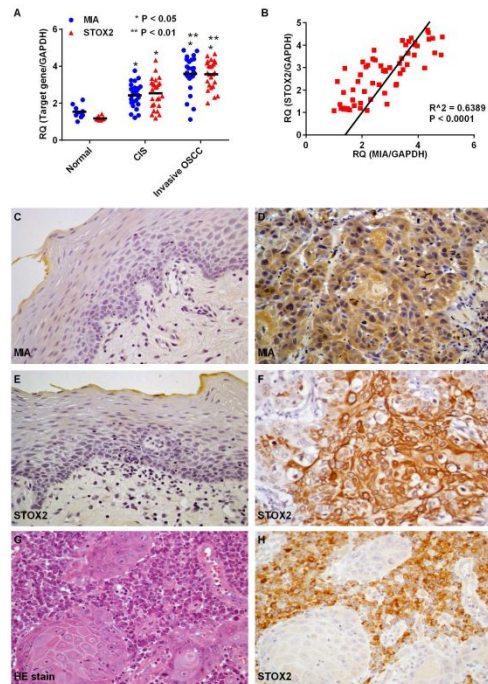


図 1

4) 無病生存曲線を求めたところ、STOX2 ないし MIA 陽性症例は陰性症例と比較して有意に予後不良であった。また多変量解析において、STOX2 の発現ならびに MIA の発現は独立した予後不良因子であった。

以上より MIA gene family に関連した新規マーカーである STOX2 は、口腔癌における新たな診断・治療マーカーとなる可能性が示唆された。

### 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 6 件)

Sasahira T, Kirita T, Yamamoto K, Ueda N, **Kurihara M**, Matsushima S, Bhawal UK, Bosserhoff AK, Kuniyasu H  
Transport and Golgi organisation protein 1 is a novel tumour progressive factor in oral squamous cell carcinoma.  
Eur J Cancer 50(12): 2142-51, 2014

Sasahira T, **Kurihara M**, Yamamoto K, Ueda N, Nakashima C, Matsushima S, Bhawal UK, Kirita T, Kuniyasu H  
HuD promotes progression of oral squamous cell carcinoma.  
Pathobiology 81(4): 206-214, 2014

Sasahira T, Nishiguchi Y, Fuiwara R, **Kurihara M**, Kirita T, Bosserhoff AK, Kuniyasu H,  
Storkhead Box 2 and melanoma inhibitory activity promote oral squamous cell carcinoma progression.  
Oncotarget, in press

Sasahira T, Kirita T, Nishiguchi Y, **Kurihara M**, Nakashima C, Bosserhoff AK, Kuniyasu H,  
A comprehensive expression analysis of the MIA gene family in malignancies: MIA gene family members are novel, useful markers of esophageal, lung, and cervical squamous cell carcinoma.  
Oncotarget, in press

Sasahira T, **Kurihara M**, Nishiguchi Y, Fujiwara R, Kirita T, Kuniyasu H  
NEDD 4 binding protein 2-like 1 promotes cancer cell invasion in oral squamous cell carcinoma.  
Virchows Archiv, in press

Sasahira T, **Kurihara M**, Nakashima C, Kirita T, Kuniyasu H  
LEM domain containing 1 promotes oral squamous cell carcinoma invasion and endothelial transmigration.  
Br J Cancer, in press

〔学会発表〕(計 5 件)  
**栗原 都**、笹平智則、山本一彦、國安弘基、桐田忠昭  
口腔癌におけるピルビン酸キナーゼ作用の多様性  
第 38 回日本頭頸部癌学会総会、東京、2014.6.12-13

**栗原 都**、中嶋智恵、松島紗弥子、笹平智則、山本一彦、パワール・ウジャール、佐々木隆光、桐田忠昭、國安弘基  
食道癌におけるピルビン酸キナーゼ・アイソゾームの発現  
第 73 回日本癌学会総会、横浜、2014.9.25-27

笹平智則、**栗原 都**、パワール・ウジャール、桐田忠昭、國安弘基  
口腔扁平上皮癌における N4BP2L1 の役割  
第 104 回日本病理学会総会、名古屋、2015.4.30-5.2

**栗原 都**、桐田忠昭、中嶋智恵、笹平智則、パワール・ウジャール、佐々木隆光、國安弘基  
口腔および食道扁平上皮癌におけるピルビン酸キナーゼ・アイソゾームの発現  
第 74 回日本癌学会総会、名古屋、2015.10.8-10

**栗原 都**、笹平智則、山本一彦、國安弘基、桐田忠昭  
口腔扁平上皮癌におけるピルビン酸キナーゼ・アイソザイムの発現  
第 34 回日本口腔腫瘍学会総会、横浜、

2016.1.21-22

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

栗原 都 (KURIHARA, Miyako)

奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員

研究者番号：40453170