

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20539

研究課題名(和文) 口腔癌の転移に関する分泌型RCAS1の機能解析

研究課題名(英文) Functional mechanism of soluble RCAS1 in OSCC metastasis

研究代表者

田中 秀明(Tanaka, Hideaki)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：30738464

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：RCAS1 はこれまでに15種類での悪性腫瘍での発現しており、癌の予後に関連の高いリンパ節転移に対しても相関を示す腫瘍関連抗原であることが報告されている。発現動態として細胞膜に発現する膜型の他に、細胞外に分離される分泌型が存在することが判っている。本研究では口腔癌由来細胞株においてもRCAS1は分泌型として発現しており、また高転移株において多く発現していることが判った。さらにRCAS1の発現は、癌のリンパ節転移に関わる因子の一つである遊走能に影響を及ぼしていることが判った。以上のことから、口腔癌のリンパ節転移に関して、RCAS1の作用を制御する必要性が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cell (RCAS1) expression is reportedly correlated with clinico-pathological parameters in 15 human cancers, such as lymph node metastasis. After proteolytic process, membranous RCAS1 is secreted to serum from tumor cells in some cancer. In Our study, membranous pattern were expressed in oral squamous cell carcinoma (OSCC) cell lines, while soluble pattern was detected in supernatants. Soluble RCAS1 were significantly seen in high metastatic potential OSCC cell more than the others. In addition, RCAS1 expression is effected to migration ability, thus contributing to tumor lymph node metastasis. To elucidate mechanism of lymph node metastasis in OSCC, it was strongly suggested that functional regulation of RCAS1.

研究分野：医歯薬学

キーワード：癌 口腔癌 RCAS1 リンパ節転移

1. 研究開始当初の背景

外科的切除や放射線療法、化学療法を用いた三者併用療法の発展にも関わらず、口腔扁平上皮癌 (oral squamous cell carcinoma: OSCC) の予後は未だに悪い。口腔扁平上皮癌 (OSCC) は再発や遠隔転移をきたすが、その原因のひとつとして骨髄中や末梢血中へ浸潤する癌細胞 (Disseminated tumor cells: DTCs) の存在が考えられている。本来であれば、腫瘍の周囲に主要浸潤リンパ球 (tumor-infiltrating lymphocyte: TIL) が存在していることから証明されるように、DTCs に対しても宿主の免疫応答は成立しているにもかかわらず、癌細胞様々な機序によって免疫監視機構から回避することによって、生体内で腫瘍が持つ免疫原性は弱くなっていると考えられている。

Receptor binding cancer antigen expressed on SiSo cells: RCAS1 は、発現動態として細胞膜表面型と分泌型が存在する癌関連抗原であり、臨床的には複数の癌において、リンパ節転移を始めとする臨床病理学的因子と相関を示すことが報告されている。また、担癌患者血清中において分泌された RCAS1 が標的細胞への細胞増殖抑制効果を有することから、RCAS1 がいくつかの癌におけるバイオマーカーとしての有用性について報告されている。

申請者らはこれまで OSCC 由来細胞株の RCAS1 発現についての検討を行っており、RCAS1 は、全ての OSCC 由来細胞株において発現しており、特に高転移株 SQUU-B において有意に強く発現していたことが分かった。さらに膜型 RCAS1 に関して同様の結果が得られたことを報告した。

2. 研究の目的

本研究では、OSCC における分泌型 RCAS1 の発現についての解析を行い、さらに、腫瘍のリンパ節転移に関わる機能と RCAS1 との関連について明らかにすることで、RCAS1 が OSCC の予後因子として有用であるかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) OSCC 由来細胞株における RCAS1 発現動態の解析

OSCC 由来細胞を培養皿に付着させた後、4日間培養を行い、解析は付着完了時から1,2,3,4日後の培養上清を使用して行った。方法は、Dot blot および ELISA を用いて解析した。

(2) OSCC 由来細胞株における RCAS1 の発現が転移能に及ぼす影響

: RCAS1 ノックダウン細胞株の作製

RCAS1 を最も強く発現していた OSCC 細胞株に RCAS1 siRNA の遺伝子導入を行い、発現

が消失することを確認し、この細胞株と通常株を用いて転移能の比較検討を行った。

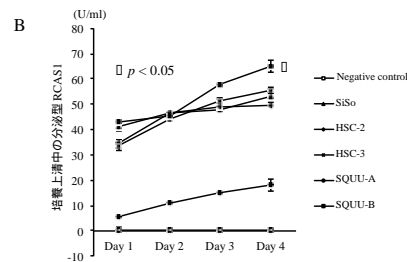
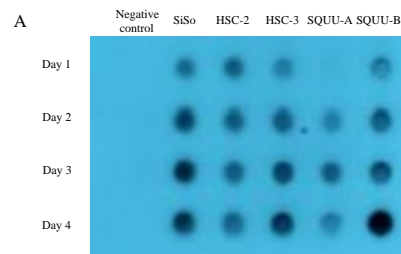
RCAS1 の発現による細胞遊走能への影響についての解析

RCAS1 を最も発現している、OSCC 細胞株と siRNA 遺伝子導入株を用いて、wound healing assay による細胞遊走能の比較検討を行った。

4. 研究成果

(1) OSCC 由来細胞株における RCAS1 発現動態の解析

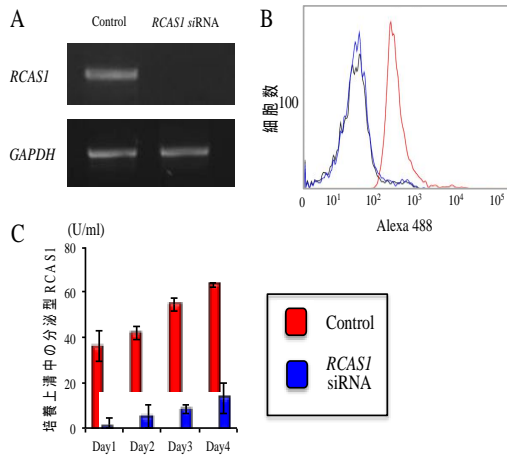
分泌型 RCAS1 の発現を dot blot (A) および ELISA (B) を用いて解析した。(A) 全ての OSCC 細胞の培養上清において分泌型 RCAS1 の発現を認めた。また、培養日数が長くなるにつれて検出濃度も増加した。(B) 他の3種の細胞と比較して、高転移株である SQUU-B の培養上清中の分泌型 RCAS1 は、有意に高濃度に検出された。



(2) OSCC 由来細胞株における RCAS1 の発現が転移能に及ぼす影響

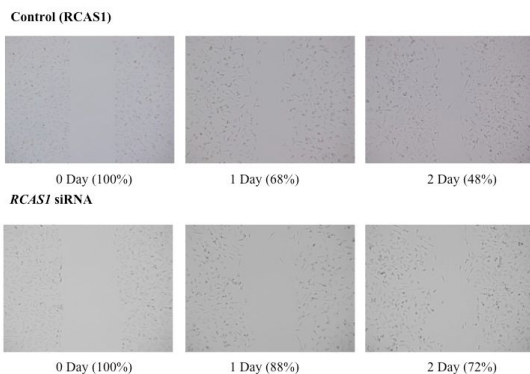
: RCAS1 ノックダウン細胞株の作製

RCAS1 を最も強く発現していた高転移株 SQUU-B に RCAS1 siRNA の導入を行った。RT-PCR 法、flow cytometry、ELISA を用いて、RCAS1 の発現は著明に抑制されたことから、RCAS1 siRNA 導入が成功していることを確認した。



RCAS1 の発現による細胞遊走能への影響についての解析

wound healing assay を用いて、RCAS1 高発現株である SQUU-B を Control 群として、RCAS1 ノックアウト株との細胞遊走能の比較検討を行った。Control 群と比較して、RCAS1 ノックアウト群は細胞遊走能が減弱していた。



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2件)

- (1) Maruse Y, Kawano S, Jinno T, Matsubara R, Goto Y, Kaneko N, Sakamoto T, Hashiguchi Y, Moriyama M, Toyoshima T, Kitamura R, Tanaka H, Oobu K, Kiyoshima T, Nakamura S.: Significant association of increased PD-L1 and

PD-1 expression with nodal metastasis and a poor prognosis in oral squamous cell carcinoma.

Int J Oral Maxillofac Surg. 2018 Jul

47(7):836-845

- (2) Kitamura R, Toyoshima T, Tanaka H, Kawano S, Matsubara R, Goto Y, Jinno T, Maruse Y, Oobu K, Nakamura S.: Cytokeratin 17 mRNA as a prognostic marker of oral squamous cell carcinoma. Oncol lett 2017 Dec 14(6):6735-6743

[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]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 秀明 (TANAKA HIDEAKI)
九州大学・大学病院・医員

研究者番号：30738464

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()