

令和元年6月19日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20235

研究課題名(和文) 上咽頭癌のリンパ球浸潤におけるヒト内在性レトロウイルスの関与

研究課題名(英文) The involvement of HERV in lymphocyte infiltration of nasopharyngeal carcinoma

研究代表者

阿河 光治 (AGA, Mitsuharu)

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：90756230

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：上咽頭癌組織と細胞株でHERVの発現を認めたため、HERVがRE-1 likeモチーフを多く含むことから転写抑制因子であるRE1-silencing transcription factor (REST/NRSF)の発現に着目して研究を行った。RESTを強制発現させると癌幹細胞の表現型で見られるようにCD24の発現が抑制され、さらにマトリゲルを通過する細胞の数が増えた。以上のことから、RESTは転写抑制因子として上咽頭癌細胞のCICに関わっており、上咽頭癌の浸潤能に寄与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

以上のことから、RESTは転写抑制因子として上咽頭癌細胞の癌幹細胞化に関わっており、上咽頭癌の浸潤能に寄与することが示唆された。以前、我々はLMP1が誘導する転写因子がエクソソームとよばれる細胞外小胞を介して周囲の細胞に運ばれることを示した。今後RESTがエクソソームを介して周囲の細胞に影響を及ぼすか検討予定である。

研究成果の概要(英文)：In the present study we showed a panel of LMP1 expressing cell lines had high expression of REST compared with not. The enhancement of REST by LMP1 was regulated by activation of REST promoter, not blockade of ubiquitin-proteasome pathway. Furthermore, we demonstrated that REST works as transcriptional suppressor of CSC marker in NPC cells. Moreover, it enhances invasive potential of NPC cells. The series of findings indicate that REST functions as transcriptional repressor and involved with invasive potential of NPC expressing EBV oncogene.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：上咽頭癌 LMP1

### 1. 研究開始当初の背景

近年、転写抑制因子である RE1-silencing transcription factor (REST/NRSF)が幹細胞形成において中心的な役割を担っていることが分かってきた。神経幹細胞では Rest はニューロン関連の遺伝子抑制を行っており、分化するには Rest の抑制つまり脱抑制が必要だということが分かっている。また、Rest は ES 細胞で高発現し Oct3/4-Sox2-Nanog 転写調節ネットワークのターゲット遺伝子でもあり、細胞の未分化性に深く関わっている。REST の発現はがん腫によって異なり、神経膠芽腫やユーイング肉腫では REST の発現が亢進しているが、乳癌では抑制されている。

### 2. 研究の目的

我々の最近の研究では Epstein-Barr virus (EBV)の癌タンパクである Latent Membrane Protein 1 (LMP1) が上咽頭癌細胞の cancer stem cell (CSC) の一種である Cancer initiating cell (CIC) の表現型を誘導すること示した。以上のことから、RESTは転写抑制因子としてEBV発癌に関わっており、上咽頭癌のCIC形成に重要な役割を担っている、という仮説を我々は立てた。

### 3. 研究の方法

内因性 REST の発現を評価するために LMP1 陽性細胞株を使用した。KH1 と KH2 は type II EBV latency の特徴をもった上皮細胞であり、type III EBV latency の特徴をもったリンパ芽球細胞株である KR4 と HeLa を融合させた細胞株である。C2G6, C3B4 と C4A3 は乳癌細胞株である MDAMB231 に EBV を感染させた細胞株であり、それぞれは異なった LMP1 発現を伴っている。LMP1 による REST の誘導を検討するために、上咽頭細胞株である AdAH に LMP1 を強制発現させ REST の発現をタンパクと mRNA レベルで調べた。また、Rest は主にユビキチンプロテアソーム系で破壊され量が調節されているため、MG132 というプロテアソーム阻害剤を使用して、ユビキチンプロテアソーム系を阻害したうえで表現レベルを評価した。さらに、マトリゲルアッセイを用い、REST を強制発現させた AdAH の浸潤能を評価した。

### 4. 研究成果

LMP1 陽性細胞株ではそうでないもの比べて REST の発現が高かった。ユビキチンプロテアソーム系の阻害では REST の発現上昇は軽度であったが、LMP1 を強制発現させると REST のタンパクと mRNA レベルでの発現は強く上昇した。そのため、LMP1 はユビキチンプロテアソーム系を介した量の調節ではなく、mRNA レベルでの発現に寄与していると考えられた。さらに、REST を強制発現させると CIC の表現型で見られるように CD24 の発現が抑制され、さらにマトリゲルを通過する細胞の数が増えた。

以上のことから、REST は転写抑制因子として上咽頭癌細胞の CIC に関わっており、上咽頭癌の浸潤能に寄与することが示唆された。以前、我々は LMP1 が誘導する転写因子がエクソソームとよばれる細胞外小胞を介して周囲の細胞に運ばれることを示した。今後 REST がエクソソームを介して周囲の細胞に影響を及ぼすか検討予定である。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

Title: Inhibition of autophagy by chloroquine makes chemotherapy in nasopharyngeal carcinoma more efficient.

Author: Aga T, Endo K, Tsuji A, Aga M, Moriyama-Kita M, Ueno T, Nakanishi Y, Hatano M, Kondo S, Sugimoto H, Wakisaka N, Yoshizaki T

Auris Nasus Larynx. 2019 Jun;46(3):443-450 (査読有)

題名: 口腔癌の治療成績と頸部リンパ節再発因子の病理学的検討

著者: 阿河 光治, 阿河 知巳, 石川 絵里子, 浦本 直紀, 石澤 伸

富山県立中央病院医学雑誌 41(3-4) 85-88 2018年10月 (査読有)

題名: セツキシマブ併用放射線療法における入院期間の検討

著者: 阿河 光治, 阿河 知巳, 石川 絵里子, 浦本 直紀, 吉崎 智一

口腔・咽頭科 31(2) 209-215 2018年6月 (査読有)

Title: C-Terminal Farnesylation of UCH-L1 Plays a Role in Transport of Epstein-Barr Virus Primary Oncoprotein LMP1 to Exosomes.

Author: Kobayashi E, Aga M, Kondo S, Whitehurst C1Yoshizaki T, Pagano JS, Shackelford J.

mSphere. 2018 Feb 7;3(1). pii: e00030-18 (査読有)

Title: Siah-1 is associated with expression of hypoxia-inducible factor-1 in oral squamous cell carcinoma.

Author: Aga M, Kondo S, Wakisaka N, Moriyama-Kita M, Endo K, Nakanishi Y, Murono S, Sugimoto H, Ueno T, Yoshizaki T.

Auris Nasus Larynx. 2017 Apr;44(2):213-219 (査読有)

〔学会発表〕(計 2 件)

発表者: Mitsuharu AGA, Tomokazu YOSHIZAKI

演題: A retrospective study of intra-arterial chemotherapy with concurrent radiotherapy for resectable locally advanced oropharyngeal carcinoma

IFHNOS (国際学会) 2018 年

発表者: 阿河光治、近藤悟、吉崎智一

EBV 癌タンパク LMP1 陽性癌細胞における RE1-silencing transcription factor (REST) の転写因子としての役割

北陸腸内細菌研究会 2018 年

〔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:

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:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号 (8 桁):

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。