

令和元年9月7日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16931

研究課題名(和文) ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤による頭頸部扁平上皮癌抗腫瘍効果のメカニズム解析

研究課題名(英文) HDAC inhibitors suppress proliferation, migration and invasion of human head and neck squamous cell carcinoma cells via p63-mediated tight junction molecules and p21-mediated growth arrest

研究代表者

小幡 和史 (Kazufumi, Obata)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：00548703

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト剖検材料を用いて調べた結果、頭頸部扁平上皮癌においてヒストン脱アセチル化酵素HDAC1、転写因子p63、タイト結合分子JAM-A、claudin-1の発現が、悪性度とともに増加がみられた。咽頭扁平上皮癌細胞株および初代培養癌細胞にHDAC阻害剤trichostatin AおよびHDAC1特異的阻害剤処置により、p63、JAM-A、claudin-1の発現低下がみられ、癌細胞の浸潤、遊走および増殖の明らかな抑制がみられ、その変化は癌細胞の細胞周期の変化を介していた。この変化の一部は、p63を介してEGFR/ERK経路で調節されていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部扁平上皮癌は一般的に予後不良である。癌の浸潤・転移を亢進させる因子であるタイト結合関連分子JAM-Aと、ヒストン脱アセチル化酵素(Histone Deacetylase: HDAC)が頭頸部扁平上皮癌で高発現していることが報告されている。HDAC阻害剤の抗腫瘍効果が最近報告されているが、その作用メカニズムは不明である。今回の研究の結果、HDAC阻害剤が頭頸部扁平上皮癌のp63の発現低下を起こし、JAM-A、claudin-1といったタイト結合分子の発現を低下させ、癌細胞の浸潤遊走を抑制していると考えられた。HDAC阻害剤の作用機序解明により、頭頸部扁平上皮癌治療がさらに進むと考えられる。

研究成果の概要(英文)：To investigate how histone deacetylase (HDAC) inhibitors affect human head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), HNSCC cell line Detroit 562 and primary cultured HNSCC were treated with HDAC inhibitors.

In the present study, higher expression of p63, HDAC1, JAM-A and claudin-1 was found in the HNSCC regions than in the adjacent dysplastic regions. In the Detroit 562, treatment with the HDAC inhibitor trichostatin A (TSA), downregulated expression of p63, JAM-A and claudin-1. In addition, treatment with TSA suppressed cancer cell proliferation via G2/M arrest, with upregulation of p21 and downregulation of cyclin D1. Treatment with TSA downregulated expression of EGFR and phospho-ERK1/2. In primary cultured HNSCC cells, HDAC inhibitors suppressed the proliferation, migration and invasion of HNSCC via downregulation of the p63-mediated tight junction molecules JAM-A and claudin-1, and induction of p63 or p21-mediated growth arrest.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部扁平上皮癌 HDAC阻害剤 JAM-A claudin-1 p63 悪性化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部扁平上皮癌は比較的稀であるが、近年増加傾向にある。進行状態で発見されることが多く、一般的に予後不良な疾患である。疾患の早期発見や新たな治療方法の開発が望まれて久しい。最近、乳癌や食道扁平上皮癌でタイト結合関連分子であるJAM-Aの高発現が報告されており、癌の浸潤・転移を亢進させる因子と考えられている。さらに、ヒストン脱アセチル化酵素(Histone Deacetylase: HDAC)阻害剤は、ヒストンアセチル化を亢進し、抗腫瘍効果を示すことが報告されている。頭頸部扁平上皮癌(HNSCC)においてもHDAC高発現がみられ、HDAC阻害剤の抗腫瘍効果は知られているが、その作用メカニズムは不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、頭頸部扁平上皮癌におけるJAM-Aを用いた補助診断および分子標的治療の可能性を明らかにすることである。そのために、悪性化におけるJAM-Aの発現を β -cateninと比較検討し、p63経路に焦点を当て発現調節メカニズムを解明する。さらに頭頸部扁平上皮癌におけるHDAC阻害剤の抗腫瘍効果メカニズムを癌細胞の浸潤および遊走に密接な関与がみられるp63依存性タイト結合分子であるJAM-Aに焦点を当て解析した。最終的には、血清JAM-A測定による補助診断、p63/JAM-Aをターゲットとした分子標的治療の基礎的研究を実施する。

3. 研究の方法

1) ヒト剖検材料を用いて前癌病変を含め頭頸部扁平上皮癌におけるJAM-Aの発現および局在の変化を形態学的悪性度(EMTマーカー:Snail, ZEB, Twist)とともに比較検討する。次に、そのJAM-Aの発現変化をp63(TAp63, deltaNp63)および β -cateninの発現変化と比較検討する。さらに、癌患者の血清中のJAM-Aを測定し、健常人および術前術後を比較検討する。

2) 癌細胞のJAM-Aの高発現の確認および発現調節機構の解明のために、頭頸部扁平上皮癌の手術材料より継代可能な初代培養癌細胞を分離培養する。

3) 頭頸部扁平上皮癌におけるJAM-Aの高発現のメカニズム解析のために、癌細胞株(Detroit562)および初代培養癌細胞を用いてp63経路に焦点を絞りsiRNAを処置し、JAM-Aの発現変化をみる。

4) 頭頸部扁平上皮癌において発現が亢進しているヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)に焦点を当て、HDAC阻害剤(汎HDAC阻害剤であるtrichostatin A, HDAC1特異的阻害剤、HDAC6特異的阻害剤)を処置し、p63およびJAM-Aの発現変化、癌細胞の浸潤・遊走の変化を調べる。

5) HDAC阻害剤処置においては癌細胞の増殖の変化も調べる。

4. 研究成果

1) 頭頸部扁平上皮癌組織の免疫染色において、全てのp63陽性の癌細胞において β -catenin同様にJAM-Aの高発現がみられた。

さらに、real-time PCR測定により癌組織の著しいJAM-A mRNAの亢進が認められた。

2) 癌患者の血清中のJAM-Aを測定した結果、健常人に比較して明らかに高値であった。術前術後においては、抑制傾向が認められた。

3) 癌細胞株および初代培養癌細胞にp63のsiRNAを処置した結果、p63の発現低下とともにJAM-Aの発現低下がみられた。

4) 癌細胞株および初代培養癌細胞に汎HDAC阻害剤であるtrichostatin A, HDAC1特異的阻害剤を処置した結果、p63およびJAM-Aの発現低下がみられ、癌細胞株の浸潤・遊走能は明らかに抑制された。

5) 癌細胞株に汎HDAC阻害剤であるtrichostatin Aを処置した結果、癌細胞の細胞周期の変化を介した増殖抑制がみられた。この変化の一部は、p63を介してEGFR/ERK経路で調節されていた。

以上のことより、頭頸部扁平上皮癌においてp63依存性のJAM-Aは癌の悪性化に関与し、可溶性JAM-Aが、血清中測定可能なことより癌の補助診断となる可能性が考えられた。さらに頭頸部扁平上皮癌におけるHDAC阻害剤の抗腫瘍効果は、癌細胞の遊走・浸潤に関しては一部p63/JAM-Aの抑制を介して、癌細胞の増殖抑制に関してはEGFR/ERK経路を介して行われていることが分かった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Kojima T, Kohno T, Kubo T, Kaneko Y, Kakuki T, Kakiuchi A, Kurose M, Takano K, Ogasawara N, Obata K, Nomura K, Miyata R, Konno T, Ichimiya S, Himi T. Regulation of claudin-4 via p63 in human epithelial cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Aug 30.
2. Kakuki T, Kurose M, Takano K, Kondo A, Obata K, Nomura K, Miyata R, Kaneko Y, Konno T, Takahashi S, Hatakeyama T, Kohno T, Himi T, Kojima T. Dysregulation of junctional adhesion molecule-A via p63/GATA-3 in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2016 Mar 28.
3. Kurose M, Kakuki T, Takano K, Kondo A, Obata K, Nomura K, Miyata R, Kaneko Y, Konno T, Kohno T, Kojima T, Himi T. Junctional Adhesion Molecule-A in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Adv. Otorhinolaryngol*. 2016 77:92-97.
4. Takano K, Kakuki T, Obata K, Nomura K, Miyata R, Kondo A, Kurose M, Kakiuchi A, Kaneko Y, Kohno T, Himi T, Kojima T. The behavior and role of lipolysis-stimulated lipoprotein receptor, a component of tricellular tight junctions, in head and neck squamous cell carcinomas. *Anticancer Research* 2016 36:5895-5904.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Obata K, Kakuki T, Kakiuchi A, Kurose M, Kondo A, Takano K, Nomura K, Miyata R, Kojima T. Evaluation of soluble JAM-A as a biomarker in head and neck squamous cell carcinoma. 6th world congress of the international federation of head and neck oncologic societies (IFHNOS) Sep 2018 Buenos Aires
2. 垣内晃人, 角木拓也, 黒瀬誠, 高野賢一, 近藤敦, 小幡和史, 野村一顕, 宮田遼, 金子躍人, 氷見徹夫, 小島隆 ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害による頭頸部扁平上皮癌タイト結合分子の変化と抗腫瘍効果 2017年生命科学系学会合同年次大会 12月6-9日 2017年
3. 垣内晃人, 角木拓也, 黒瀬誠, 高野賢一, 近藤敦, 小幡和史, 野村一顕, 宮田遼, 金子躍人, 幸野貴之, 氷見徹夫, 小島隆 頭頸部扁平上皮癌におけるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤の p63 依存性タイト結合分子を介した抗腫瘍効果 第 68 回日本細胞生物学会 6月13-15日 2017年
4. 角木拓也, 黒瀬誠, 高野賢一, 近藤敦, 小幡和史, 野村一顕, 宮田遼, 金野匠, 高橋俊太, 畠山翔翼, 幸野貴幸, 氷見徹夫, 小島隆 頭頸部扁平上皮癌における p63/GATA-3 経路を介したタイト結合分子 JAM-A の発現調節機構 第 67 回日本細胞生物学会 6月 2015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：小島 隆

ローマ字氏名：Kojima Takashi

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部 フロンティア医学研究所

職名：教授

研究者番号（8桁）：30260764

研究分担者氏名：高野 賢一

ローマ字氏名：Takano Kenichi

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部 耳鼻咽喉科

職名：教授

研究者番号（8桁）：70404689

研究分担者氏名：垣内 晃人

ローマ字氏名：Kakiuchi Akito

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部 耳鼻咽喉科

職名：診療医

研究者番号（8桁）：60722436

研究分担者氏名：矢島 諒人

ローマ字氏名：Yajima Ryoto

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部 耳鼻咽喉科

職名：診療医

研究者番号（8桁）：90722455

研究分担者氏名：角木 拓也

ローマ字氏名：Kakuki Takuya

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部 耳鼻咽喉科

職名：診療医

研究者番号（8桁）：70706548

研究分担者氏名：金子 躍人

ローマ字氏名：Kaneko Yakuto

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部 耳鼻咽喉科

職名：診療医

研究者番号（8桁）：90738874

研究分担者氏名：氷見 徹夫

ローマ字氏名：Himi Tetsuo

所属研究機関名：札幌医科大学
部局名：医学部 耳鼻咽喉科
職名：診療医
研究者番号（8桁）：90181114

(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。