

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年5月24日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16935

研究課題名(和文) 頭頸部扁平上皮癌におけるJunBおよびAP-1遺伝子群の転移機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of metastasis mechanism by JunB and AP-1 family in head and neck squamous cell carcinoma

研究代表者

百束 紘 (HYAKUSOKU, HIROSHI)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：80712794

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：遠隔転移に関するAP-1遺伝子群に影響される候補因子を見つけるため、当教室で持つ頭頸部扁平上皮癌細胞株の中から、肺転移を多く起こす細胞株を選択し、遺伝子発現を抑制するsiRNAの技術を用いて、JunBおよびFosL1の遺伝子発現を抑制し、コントロール細胞株と共に、タンパクを網羅的に解析できるプロテオーム解析を行った。その結果から、HMGA1遺伝子をAP-1遺伝子群に影響される候補因子として同定した。同様にsiRNAの技術を用いて、HMGA1の遺伝子発現を抑制したところ、抑制細胞株において、細胞株の遊走能の低下を認め、HMGA1が頭頸部扁平上皮癌の転移に関わる遺伝子であ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

頭頸部癌は鎖骨より頭側にある身体のうち、眼球と頭蓋内を除いた部位から発生する悪性腫瘍である。頭頸部は摂食や嚥下、構音などの生きていく上で欠かせない重要な部位であり、かつ見た目に大きく関わる部位であるため、手術で癌を取り除くことが容易でないことや顔面の形態が著しく変形するため、手術を希望されないことも多い。頭頸部癌の予後を大きく左右するのが、頸部リンパ節転移および肺転移であるため、転移を抑制するまたは、早期に転移を起こしやすい因子を発見することが頭頸部癌患者の予後を改善する重要な因子であると考えられる。その転移の原因を模索し、今後の新規治療法や新規診断法の開発に役立てることがこの研究の意義である。

研究成果の概要(英文)：In order to find candidate factors affected by AP-1 family related to distant metastasis, we chose head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) cells which cause many lung metastases from among HNSCC cell held in our department, and performed proteome analysis that can be used to comprehensively analyze proteins using cells suppressed by siRNA JunB and FosL1 with control cells. Then, HMGA1 was identified as a candidate factor affected by AP-1 family. Similarly, we suppressed HMGA1 gene by siRNA HMGA1 and found that the migration ability of cells was decreased in suppressed cells. Therefore, we suggested that HMGA1 is one of genes involved in metastasis of HNSCC.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：頭頸部癌 遠隔転移 AP-1遺伝子群

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

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は口腔，咽頭，喉頭等の臓器から発生し，局所領域の症状に乏しいこともあり，発見時に進行癌や遠隔転移を伴っている場合も多く，予後不良である。また根治治療後に遠隔臓器で再発を来す患者も多く，診断および治療法の進歩によって局所領域制御率は向上しているものの，最近数十年で頭頸部癌患者の予後に大きな改善が得られていないのが現状である。そのため，頭頸部癌の遠隔転移の機序を解明し，頭頸部癌の遠隔転移を早期に発見する診断法や遠隔転移巣を標的とする新しい治療法の開発は，頭頸部癌の治療成績改善に直結すると考える。

2. 研究の目的

頭頸部癌の遠隔転移の機序を解明するため，申請者は頭頸部癌の遠隔転移関連候補遺伝子として AP-1 遺伝子群を同定し，さらに，JunB が浸潤能，遊走能を促進し，頭頸部癌の遠隔転移能を高めることを明らかにした。

本研究の目的は JunB および AP-1 遺伝子群により発現を制御され，浸潤能，遊走能の変化に直接関与する因子をプロテオーム解析により探索し，頭頸部癌の新たな治療標的を同定することである。さらに，同定された遠隔転移関連因子の臨床検体における発現と臨床経過を検討することで，頭頸部癌の遠隔転移を早期に予見できるマーカーとしての有効性について調べる。

3. 研究の方法

頭頸部癌肺転移高形成株のコントロール細胞株とその JunB ノックダウン細胞株，および FosL1 ノックダウン細胞株を用いてプロテオーム解析を行い，その結果に keynode 解析を行い，AP-1 遺伝子群に発現調整される遠隔転移の制御に関わる候補タンパク A 群を同定する。

上記で同定したタンパクをコードする遺伝子を発現抑制した細胞株を作製し，浸潤能および遊走能，遠隔転移能を検討し，AP-1 遺伝子群に発現調整される遠隔転移関連因子を同定する。

頭頸部扁平上皮癌患者の手術検体の原発巣および転移巣の臨床検体を用いて，JunB あるいは FosL1 および，同定した転移関連因子の免疫組織化学を行い，それらのタンパク発現の強度と臨床経過における再発および転移，特に遠隔転移再発，予後との関係を比較検討する。

4. 研究成果

1) AP-1 遺伝子群に発現調整される遠隔転移の制御に関わる候補タンパクの同定

当研究室が所有する頭頸部扁平上皮癌細胞株のうち，既報で述べた肺転移高形成細胞株に対し JunB および FosL1 を標的とする siRNA を導入し JunB および FosL1 をノックダウンした細胞を作成，それらを用いてプロテオーム解析を行った。scramble siRNA を導入した細胞をコントロールとし，タンパク発現量を比較，発現変動の解析を行った。

その結果から，HMGA1 を AP-1 遺伝子群に発現調整される遠隔転移の制御に関わる候補タンパクとした。

2) AP-1 遺伝子群に発現調整される遠隔転移関連因子の同定と，その機能解析

HMGA1 をターゲットとする siRNA を頭頸部扁平上皮癌細胞株に導入し HMGA1 の発現抑制による機能解析を行った。複数の頭頸部扁平上皮癌細胞株を用いて，scratch assay を行い，HMGA1 発現抑制により細胞株の遊走能の低下を認めた。その後，安定的 HMGA1 発現抑制細胞株の作成に取り組んでいるが，作成することができず，それ以降の機能解析が行えていない。

並行して FOSL1 についても検討した。肺転移，頸部リンパ節転移高形成細胞株を用いて，siRNA FOSL1 による発現抑制を検討したところ，細胞株の遊走能の低下を認めた。そこで，shRNA による FOSL1 の安定発現抑制細胞株を作成し，その先の検討を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

佐野 大佑, 百束 紘, 折館 伸彦, 【頭頸部癌学-診断と治療の最新研究動向-】 頭頸部癌基礎研究の動向 遺伝子カスケード解析による転移制御機序の解明(解説/特集) 査読有, 日本臨床(0047-1852)75 巻増刊 2 頭頸部癌学 Page153-158(2017.02)

〔学会発表〕(計2件)

澤熊 香衣, 佐野 大佑, 波多野 孝, 百束 紘, 磯野 泰大, 島田 翔子, 高田 顕太郎, 折館 伸彦, 頭頸部扁平上皮癌の遠隔転移における Fra-1 の役割(英語)(会議録) 日本癌学会総会記事(0546-0476)76 回 Page P-1301(2017.09)

佐野 大佑, 澤熊 香衣, 百束 紘, 波多野 孝, 磯野 泰大, 高田 顕太郎, 佐藤 要, 桑原 達, 相澤 圭洋, 折館 伸彦, 頭頸部癌の頸部リンパ節転移機構における FOSL1 の関与について (FOSL1 promotes regional metastasis of head and neck squamous cell carcinoma)(英語)(会議録), 日本癌学会総会記事 (0546-0476)77 回 Page774(2018.09)

〔図書〕(計0件)

なし

〔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

なし

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

該当者なし

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

該当者なし

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。