

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2006-2008

課題番号：18591878

研究課題名(和文) 頭頸部癌組織における ADAM プロテアーゼの発現スクリーニングと機能解析

研究課題名(英文) Expression and function analysis of ADAM proteinases in head and neck cancer tissues

研究代表者

島田 剛敏 (SHIMADA TAKETOSHI)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：30275226

研究成果の概要：

頭頸部癌組織(口腔・咽頭癌 26 例、甲状腺癌 17 例、唾液腺癌 6 例)について実験が可能であった。組織ホモジネートを行ない、total RNA 抽出、逆転写(RT)反応を行ない cDNA を合成し ADAM9, 10, 12, 15, 17, 28 について、標本から合成された cDNA からインターナルコントロールを GAPDH として半定量的 PCR を行ない、ADAM 分子の発現量について解析を行なった。それぞれの病理組織型の癌組織において非癌部組織を陰性コントロールとして比較し、癌組織において高発現している ADAM 分子を検索した。また癌組織においてそれぞれの病理組織間の比較によって発現量に差を認める特徴的な ADAM 分子を検索した。甲状腺癌組織および唾液腺癌組織においては癌組織で高発現である ADAM 分子は ADAM17 と ADAM28 であった。口腔・咽頭の扁平上皮癌においては ADAM12、ADAM17 と ADAM28 であった。その発現量は口腔・咽頭扁平上皮癌が他に比べ多かった。病期、リンパ節および遠隔転移、再発、分化度、などの臨床病理学的因子との相関を確認することが出来なかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2007 年度	700,000	210,000	910,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科 頭頸部外科学

キーワード：頭頸部癌、ADAM、プロテオライシス

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで癌細胞の浸潤・転移に重要と考えられている細胞外マトリックス (ECM) 分解に最も強力な酵素活性を示すとされる MMPs (matrix metalloproteinase) を中心に研究してきた。口腔扁平上皮癌では MMP-2 の産生と Membrane type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) による活性化が頸部リンパ節転移に重要であることを示した (Clin Exp Metastasis 2000)。また甲状腺乳頭癌の頸部リンパ節転移においても MT1-MMP による MMP-2 の活性化が重要であることを示した (Cancer Res 1999)。唾液腺癌においては粘表皮癌では同様に MT1-MMP による MMP-2 の活性化が悪性度やリンパ節転移と関連したが、腺様嚢胞癌、腺癌では MT1-MMP による MMP-2 の活性化が TIMP-2 によって阻害されていることを明らかにした (J Pathol 2004 13、14 年度科研費若手 B)。以上の結果から多くの癌での浸潤・転移における MMPs の重要性が認識されるが、一方で腺様嚢胞癌、腺癌のように MMPs が臨床病理学的因子に相関を示さなかったものもあり、新しい ECM 分解酵素についての検討が必要となってきた。ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) ファミリーは MMP と類似したメタロプロテアーゼドメインを持ち、ディスインテグリンドメインによって細胞膜のインテグリンに結合し細胞膜表面でのプロテオリシスに関与する可能性から、様々な新しい機能が予想されている。またメタロプロテアーゼドメインの構造の違いから酵素型 ADAM と非酵素型 ADAM に、また細胞膜貫通ドメイン、細胞内ドメインの有無により膜型 ADAM と分泌型 ADAMTS 分けられて一部の基質が明らかになりつつある。膜型 ADAM は細

胞表面で増殖因子やレセプターの代謝に関与し、HB-EGF, TGF- α , TNF- α の shedding の新規機能が報告されており (ADAM9, 12, 17)、分泌型 ADAMTS は ECM 分解に関与して、軟骨、脳、血管のプロテオグリカン (アグリカン、プレビカン、パーシカン) などの新規基質の分解活性が報告されているが、癌組織での発現や機能については報告がほとんどなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、頭頸部癌組織において酵素型 ADAM の発現をスクリーニングし高発現する分子を特定、その特定された酵素による特異的基質の組織内分解を解析し、増殖または浸潤、転移との関連を考察することである。

3. 研究の方法

(1) 研究対象：京都府立医科大学において手術的に摘出された頭頸部癌組織標本から癌組織の一部及びセーフティマージンの非癌部組織を陰性コントロールとして一部採取し、研究に用いた。

(2) 標本の調整：上記により採取された標本は速やかに凍結し-80℃で保存する。組織ホモジネートを行ない、total RNA を抽出し、エタノール中で沈澱させ-80℃で保存、必要時融解し逆転写 (RT) 反応を行ない cDNA を合成した。

(3) RT-PCR：酵素型 ADAM の頭頸部癌組織内の発現を RT-PCR 法で半定量的に解析しリンパ節転移や浸潤様式等との相関を検討した。

4. 研究成果

18 年度からの総計で頭頸部癌組織 (口腔・咽頭癌 26 例、甲状腺癌 17 例、唾液腺癌 6 例)

について実験が可能であった。組織ホモジネートを行ない、total RNA 抽出、逆転写 (RT) 反応を行ない cDNA を合成し ADAM9, 10, 12, 15, 17, 28 について、標本から合成された cDNA からインターナルコントロールを GAPDH として半定量的 PCR を行ない、ADAM 分子の発現量について解析を行なった。それぞれの病理組織型の癌組織において非癌部組織を陰性コントロールとして比較し、癌組織において高発現している ADAM 分子を検索した。また癌組織においてそれぞれの病理組織間の比較によって発現量に差を認める特徴的な ADAM 分子を検索した。甲状腺癌組織および唾液腺癌組織においては癌組織で高発現である ADAM 分子は ADAM17 と ADAM28 であった。口腔・咽頭の扁平上皮癌においては ADAM12、ADAM17 と ADAM28 であった。その発現量は口腔・咽頭扁平上皮癌が他に比べ多かった。病期、リンパ節および遠隔転移、再発、分化度、などの臨床病理学的因子との相関を確認することができず、頭頸部癌における機能解析を施行することが出来なかった。

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 5 件)

- ①. Nakano H, Kishida T, Asada H, Shin-Ya M, Shinomiya T, Imanishi J, Shimada T, Nakai S, Takeuchi M, Hisa Y, Mazda O. Interleukin-21 triggers both cellular and humoral immune responses leading to therapeutic antitumor effects against head and neck squamous cell carcinoma. *J Gene Med* 8 (1) : 90-99, 2006.1. (査読有り)
- ②. Shimada T, Okano H, Hisa Y. A

case of severe dilatation of the parotid duct due to fibrinous sialodochitis. *Acta otolaryngologica* 126 (10) : 1112-1114, 2006.10. (査読有り)

- ③. Shimada T, Matsui M, Ikebuchi K, Nakano H, Shinomiya T, Nakai S, Hisa Y. Multiple myeloma involving the thyroid cartilage. *Auris Nasus Larynx* 34(2) : 277-279, 2007.6.
- ④. Matsui M, Kishida T, Nakano H, Yoshimoto K, Shin-ya M, Shimada T, Nakai S, Imanishi J, Yoshimoto T, Hisa Y, Mazda O. Interleukin-27 activates natural killer cells and suppresses NK-resistant head and neck squamous cell carcinoma through inducing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Cancer Res* 69(6) : 2523-2530, 2009. 3. (査読有り)
- ⑤. Ikebuchi K, Chano T, Tameno H, Shimada T, Hisa Y, Okabe H. RB1CC1 activates the promoter and expression of RB1 in human cancer. *Int J Cancer* (Epub ahead of print) 2009. (査読有り)

[学会発表] (計 4 件)

- ①. 上田 大, 神奈川玲児, 後藤嘉子, 丁剛, 池淵嘉一郎, 松井雅裕, 中野 宏, 島田剛敏, 四ノ宮 隆, 中井 茂, 久育男. 頭頸部扁平上皮癌における CCR7, CXCR4 の発現の検討. 第 30 回日本頭頸部癌学会. 2006 年 6 月 16 日 ; 大阪.
- ②. 松井雅裕, 岸田綱郎, 浅田秀基, 中野 宏, 島田剛敏, 中井 茂, 今西二郎,

松田 修, 久 育男. マウス扁平上皮癌に対する IL-27 の抗腫瘍効果とその作用機序の検討. (ポスター) 第31回日本頭頸部癌学会. 2007年6月14日; 横浜.

- ③. Goto Y, Ueda M, Tei K, Shimada T, Nakai S, Hisa Y, Kannagi R. Reciprocal effect of hypoxia on expression of chemokine receptor CXCR4 and CCR7 in squamous cancer cells. (ポスター) 第66回日本癌学会. 2007年10月3日; 横浜.
- ④. Shimada T, Ueda M, Yoshimoto K, Matsui M, Nakano H, Nakai S, Hisa Y, Kannagi R. Expression of CCR7 and CXCR4 in head and neck squamous cell carcinoma. 7 th International Conference on Head and Neck Cancer. 2008 Jul 20; San Francisco, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島田 剛敏 (SHIMADA TAKETOSHI)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号: 30275226