

令和 5 年 4 月 29 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09851

研究課題名（和文）頭頸部癌の頸部リンパ節転移におけるAP-1遺伝子群の役割および機能解析

研究課題名（英文）The role and functional analysis of the AP-1 family in cervical lymph node metastasis of head and neck 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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：頭頸部癌は高頻度に転移病変を有し、その制御が困難なため死に大きく関わる疾患である。申請者は、ヒト頭頸部癌細胞株を用いた同所性マウスモデルにおける頸部リンパ節転移形成能の結果と、whole gene microarrayおよび遺伝子カスケード解析を組み合わせ、頭頸部癌転移関連候補遺伝子としてAP-1遺伝子群を同定した。そのうち、FosL1がヒト頭頸部癌細胞株の細胞増殖能、遊走能に関わることを同定し、さらに同所性マウスモデルにおいて、FosL1を抑制することが頸部リンパ節転移能を低下させることを同定した。以上よりFosL1発現抑制により頭頸部癌における頸部リンパ節転移能が低下することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌は高頻度に転移病変を有し、その制御が困難なため死に大きく関わる疾患である。申請者は、FosL1が頭頸部癌の頸部リンパ節転移に関わることを同定し、FosL1を抑制することで、頸部リンパ節転移を抑制できることを示した。

今後、FosL1に関わるパスウェイを抑制するような新薬の開発によって、頭頸部癌患者の治療成績の向上に寄与する可能性や、事前に頸部リンパ節転移を起こしやすいか否かを推測できる可能性があり、頭頸部癌患者に対するオーダーメイド治療が可能となり得る。

研究成果の概要（英文）：Head and neck carcinoma has a high frequency of metastatic lesions, and is greatly related to death because it is difficult to control. The applicant combined the results of cervical lymph node metastasis in an orthotopic mouse model using human head and neck carcinoma cell lines with whole gene microarray and key node analysis to identify the AP-1 family as a candidate related to cervical lymph node metastasis in head and neck carcinoma. Among them, FosL1 was identified to be involved in cell proliferation and migration in human head and neck carcinoma cell lines. Furthermore, we identified that the suppression of FosL1 decreased cervical lymph node metastasis potential in human head and neck carcinoma cell lines. The suppression of FosL1 suggested to decrease the cervical lymph node metastatic potential in head and neck carcinoma.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：頭頸部癌 頸部リンパ節転移

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は、ここ数十年予後の改善は乏しい。大きな原因の一つとして、頭頸部癌が高頻度に転移病変を有し、その制御が困難なため治療成績が改善しないことがあげられる。申請者は同所性頭頸部癌モデルを用いて、頭頸部癌の頸部リンパ節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、FosL1 が細胞増殖能、遊走能および頸部リンパ節転移能を促進することを明らかにした。本研究の目的は FosL1 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、頸部リンパ節転移能の変化に直接関与する因子を網羅的解析手法により探索し、臨床検体と比較検討することで、頭頸部癌の新たな診断法や治療標的を同定することである。

2. 研究の目的

頭頸部癌は局所領域の症状に乏しく、発見時には頸部リンパ節転移を伴った進行癌が多く、また、化学療法、外科的切除、放射線治療といった集学的治療が行われているにも関わらず、ここ数十年予後の改善は乏しい。大きな原因の一つとして、頭頸部癌が高頻度に転移病変を有し、その制御が困難なため治療成績が改善しないことがあげられる。申請者は同所性頭頸部癌モデルを用いて、頭頸部癌の頸部リンパ節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、FosL1 が細胞増殖能、遊走能および頸部リンパ節転移能を促進することを明らかにした。本研究の目的は、FosL1 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、頸部リンパ節転移能の変化に直接関与する因子を網羅的解析手法により探索し、臨床検体と比較検討することで、頭頸部癌の新たな診断法や治療標的を同定することである。

3. 研究の方法

申請者は、数多くの頭頸部癌細胞株による同所性頸部リンパ節転移モデルにおける頸部リンパ節転移形成能を *in vivo* で検討し、さらに whole gene microarray および遺伝子カスケード解析を行うことで、頭頸部癌転移関連候補遺伝子として AP-1 遺伝子群を同定した。

(1) AP-1 遺伝子群の複数のタンパク発現を検討し、FosL1 において、siRNA を用いた FosL1 発現抑制によりヒト頭頸部癌細胞株の細胞増殖能、遊走能が低下することを同定した。

(2) shRNA を用いて、安定的タンパク発現抑制細胞株を作成し、siRNA と同様に、ヒト頭頸部癌細胞株の細胞増殖能、遊走能が低下するかを検討した。

(3) 同所性頸部リンパ節転移モデルを用いて、頸部リンパ節転移能が変化するかを検討した。同時に、安定的タンパク発現抑制細胞株の細胞増殖能や、*in vivo* における生存期間の変化についても検討した。

その結果、安定的 FosL1 発現抑制細胞株は、安定的コントロール細胞株と比較し、細胞増殖能、遊走能が低下した。さらに、同所性頸部リンパ節転移モデルを用いて、頸部リンパ節転移能の検討をした結果、コントロール細胞株を移植した群と比較して、安定的 FosL1 発現抑制細胞株を移植した群は、頸部リンパ節転移能が低下し、生存の延長も認められた。以上より、FosL1 発現抑制により、頭頸部癌における頸部リンパ節転移能が低下することが示された。

(4) そこで、安定的 FosL1 発現抑制細胞株は、安定的コントロール細胞株を用いて、プロテオーム解析を行い、2 群間のタンパク発現の発現変動比(Fold change)を算出し、比較した。発現変動比が 1.5 以上に該当するタンパクを選出し、生命情報統合プラットフォームである keymolnet を用いた keynode 解析を行うことで、FosL1 (または AP-1 遺伝子群の他の因子) に発現調整される頸部リンパ節転移の制御に関わる候補タンパクを探索した。

4. 研究成果

(1) AP-1 遺伝子群の複数のタンパク発現を検討し、FosL1 において、siRNA を用いた FosL1 発現抑制によりヒト頭頸部癌細胞株の細胞増殖能、遊走能が低下することを同定した(図 1)。

(2) そこで、shRNA を用いた FosL1 の安定的タンパク発現抑制細胞株を作成し、検討した結果、安定的 FosL1 発現抑制細胞株は、安定的コントロール細胞株と比較し、細胞増殖能、遊走能が低下した(図 2a-c)。

(3) 同所性頸部リンパ節転移モデルを用いて、頸部リンパ節転移能の検討をした結果、コントロール細胞株を移植した群と比較して、安定的 FosL1 発現抑制細胞株を移植した群は、頸部リンパ節転移能が低下し、腫瘍増殖能も低下し、マウスの生存率も上昇した(図 2d-f)。

以上より、FosL1 発現抑制により、頭頸部癌における頸部リンパ節転移能が低下することが示された。

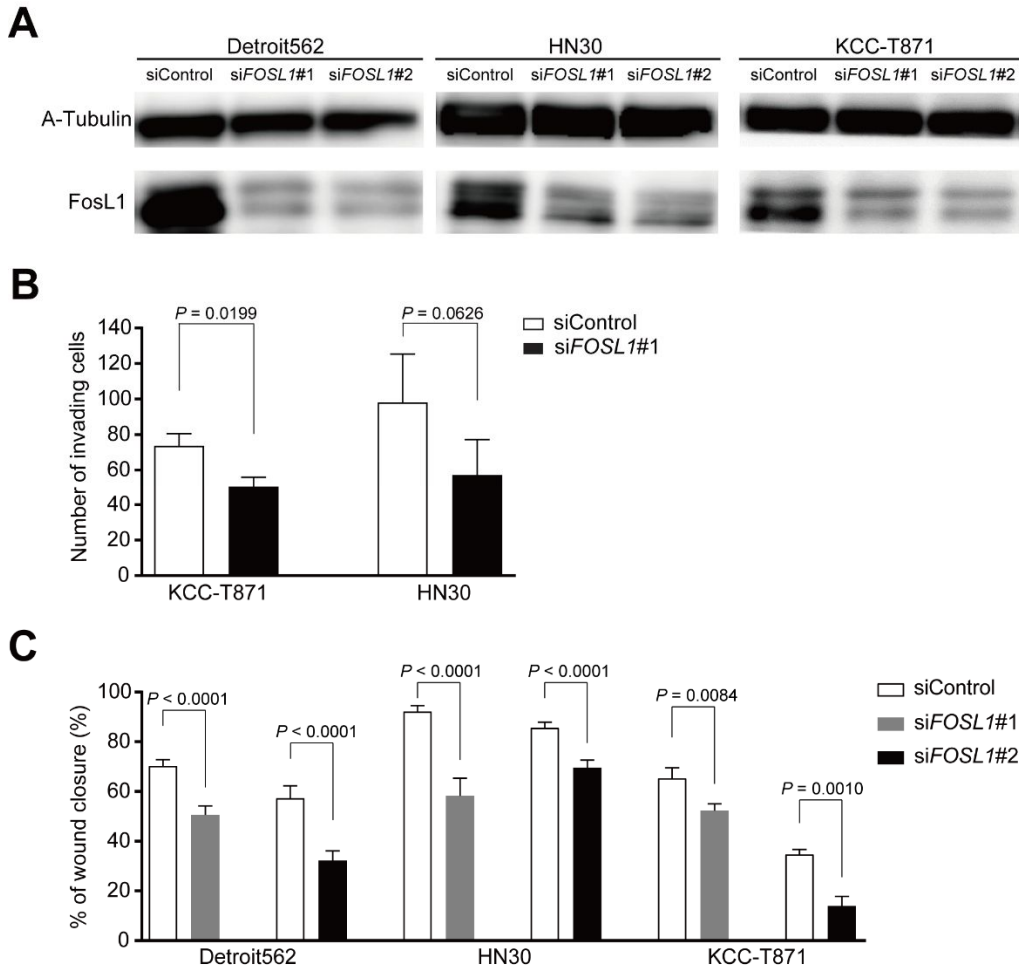


図 1 siRNA による FosL1 発現抑制によって細胞浸潤能，遊走能が低下した

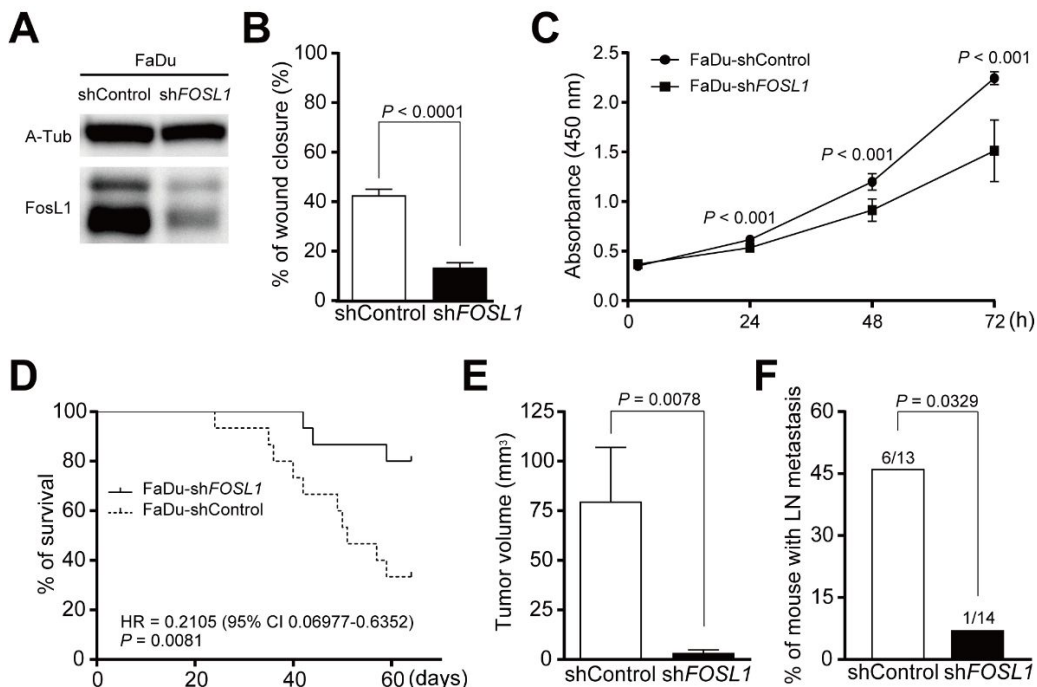


図 2 shRNA による安定 FosL1 発現抑制は，細胞増殖能，マウスモデルにおける腫瘍増殖能，頸部リンパ節転移能を抑制し，マウスの生存率を上昇した。

そこで、FosL1 に制御される下流にある遺伝子の中から、浸潤能、遊走能、頸部リンパ節転移に直接関与する因子の探索を行うため、安定的コントロール細胞株と安定的 FosL1 発現抑制細胞株を用いて、プロテオーム解析を行い、候補遺伝子の絞り込みを行い、いくつかの候補遺伝子を同定したが、これらの中から頭頸部癌における頸部リンパ節転移に関わる遺伝子の同定には至らなかった。

引用文献

1. Hyakusoku H, Sawakuma K, Sano D, Takahashi H, Hatano T, Sato K, Isono Y, Shimada S, Takada K, Kuwahara T, Aizawa Y, Oridate N. FosL1 Regulates Regional Metastasis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma by Promoting Cell Migration, Invasion, and Proliferation. *Anticancer research*. 2021;41(7):3317-26.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hiroshi Hyakusoku, Kae Sawakuma, Daisuke Sano, Hideaki Takahashi, Takashi Hatano, Kaname Sato, Yasuhiro Isono, Shoko Shimada, Kentaro Takada, Tatsu Kuwahara, Yoshihiro Aizawa, Nobuhiko Oridate	4. 巻 41
2. 論文標題 FosL1 Regulates Regional Metastasis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma by Promoting Cell Migration, Invasion, and Proliferation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer research	6. 最初と最後の頁 3317-3326
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.15119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	折館 伸彦 (Oridate Nobuhiko) (90312355)	横浜市立大学 (22701)	
研究協力者	佐野 大佑 (Sano Daisuke) (10620990)	横浜市立大学 (22701)	
研究協力者	高橋 秀聡 (Takahashi Hideaki) (50727196)	横浜市立大学 (22701)	
研究協力者	波多野 孝 (Hatano Takashi) (40807583)	横浜市立大学 (22701)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	高田 顕太郎 (Takada Kentaro) (50898020)	横浜市立大学 (22701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関