

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：81303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09861

研究課題名(和文) S100A10による頭頸部癌悪性化と新規治療・診断への応用

研究課題名(英文) Malignant transformation of head and neck cancer by S100A10 and application to novel treatment and diagnosis

研究代表者

小鎌 直子(Ogama, Naoko)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター(研究所)・がん先進治療開発研究部・主任研究員

研究者番号：30390892

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)：当研究者らは、頭頸部癌のがん幹細胞(CSC)に、S100A10が特異的に発現していることをプロテオミクス解析により突き止めたので、S100A10の癌悪性化への関与について、解明を試みた。その結果、*in vitro*ではS100A10が細胞増殖能・遊走能・浸潤能を増加させ、癌幹細胞の特性の一部に関わっていることが明らかになった。また、*in vivo*でS100A10は、腫瘍増殖能を高め、造腫瘍の際には必須の分子であることが判明した。さらに、臨床検体を使用した免疫組織化学分析は、全生存率や疾患特異的生存率がS100A10low発現の患者と比較してS100A10high患者で有意に短く、予後と相関した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌は特徴的なドライバー遺伝子がない。このため、上皮間葉転換(EMT)などが解析されてきたが、予想された進展は乏しく、ブレークスルーが期待されている。本研究の特色は、腫瘍転移と腫瘍浸潤の関係をS100A10という新しい切り口から解析し、そのメカニズムを明らかにする点にある。これまでほとんど手つかずであった分子による悪性形質を検証することにより、将来の分子標的治療の標的同定と診断に道を拓く可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：Our researchers found that S100A10 is specifically expressed in cancer stem cells (CSCs) of head and neck cancer by proteomics analysis and attempted to elucidate the involvement of S100A10 in cancer malignant transformation. As a result, it was clarified that S100A10 increased cell proliferation, migration, and invasion *in vitro*, and was involved in some of the characteristics of cancer stem cells. In addition, S100A10 was found to enhance tumor proliferation *in vivo* and to be an essential molecule during tumorigenesis. Furthermore, immunohistochemical analysis using clinical specimens showed that overall survival and disease-specific survival were significantly shorter in patients with S100A10high than in those with S100A10low expression and correlated with prognosis.

研究分野：がん先進治療

キーワード：がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は扁平上皮癌が大部分を占め、明確なドライバー変異がないため、手術不能例や再発例は予後不良であり、新たな治療戦略が必要である。癌幹細胞(CSC)は、分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬が奏功しない難治性癌の標的となる。我々は、新たな標的分子を探索するため、臨床がん検体を用いた異種移植系(PDX)によって、CD271 が有望な癌幹細胞マーカーであることを見出した。しかしながら、CD271 は正常神経系にも発現していることから、治療標的としては不適切であると想定され、治療開発に進むことができずにいた。そこで、頭頸部癌幹細胞において特徴的に活性化している分子の同定に挑んだ。たんぱく質を網羅的に解析した結果、S100A10 が頭頸部癌において強く発現していることを突き止めた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、S100A10 による頭頸部癌の悪性を解明し、治療・診断標的としての妥当性を検証することである。特に、S100A10 による CSC の維持、浸潤と転移、予後との相関、診断マーカーおよび治療標的としての可能性を明らかにする。すなわち、頭頸部癌における S100A10 機能の分子基盤を同定し、これらの学術的成果を応用して、最終的に、S100A10 を標的とする新たな治療に向けた基盤技術の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1)細胞株

頭頸部癌 PDX 細胞株(HPCM2)について、ヒト S100A10 配列をもとにターゲティングベクターを構築することにより、S100A10 ノックダウン細胞および、CRISPER/Cas9 法を用いたゲノム編集技術も使用して S100A10 ノックアウト細胞株を作製した。

(2)マウス

腫瘍増殖能の解析のため、nude マウス(免疫不全マウス)を購入して使用した。また、造腫瘍能の解析のため、NOG マウス(高度免疫不全マウス)を購入して使用した。動物実験は宮城県立がんセンターの動物実験施設管理委員会の承認を得たプロトコールに従って実施し、倫理面にも配慮した。

(3)細胞遊走・細胞浸潤の解析

ダブルチャンバーシステム(Matrigel invasion chamber 等)を用いて解析した。

(4)臨床検体

病理検体組織および細胞を用いた解析に関しては、インフォームドコンセントに十分留意し、同意を得て収められた検体を保有する、宮城県立がんセンター内ティッシュバンクセンターより試料の供与を受けた。

4. 研究成果

(1)細胞増殖における S100A10 の働き

HPCM2 と HPCM2-S100A10-KO の細胞増殖性を *in vitro* 及び *in vivo* で比較した。*In vitro* では HPCM2-S100A10-KO の増殖速度が有意に低下していた。一方、*in vivo* における nude マウスを使

用した異種移植実験でも、HPCM2-S100A10-KO の腫瘍増殖速度が有意に低下していた。一方、共焦点顕微鏡下で HPCM2-S100A10-KO 細胞を観察したところ、一部に細胞分裂異常像が認められた。したがって、S100A10 の細胞増殖における役割の一部は細胞分裂異常に起因する可能性が考えられる。

(2)細胞の運動性における S100A10 の働き

HPCM2 と HPCM2-S100A10-KO の創傷治癒能、細胞遊走能、細胞浸潤能を比較したところ、いずれも HPCM2-S100A10-KO において低下していた。また、そのメカニズムを探るために、共焦点顕微鏡下でのタイムラプス観察を行った。すると、HPCM2 が非常に活発に移動しているのに対し、HPCM2-S100A10-KO はほとんど静止しており、両細胞の移動距離に有意な差が出た。このことから、S100A10 は、細胞運動に欠かせない分子であると結論付けられた。細胞運動性は癌の悪性形質であるため、S100A10 阻害は癌の浸潤と転移を抑制する可能性があると考えられる。

(3)癌細胞性の維持における S100A10 の働き

HPCM2-S100A10-KO 細胞の癌幹細胞性について、HPCM2 との比較を行った。その結果、*in vitro* で HPCM2-S100A10-KO 細胞は、スフィア形成能や、細胞表面の癌幹細胞マーカーレベル、数種の薬剤耐性遺伝子の発現が低下していた。しかし、がん幹細胞マーカー遺伝子(山中遺伝子)や、別種の薬剤耐性遺伝子の発現については、HPCM2 との差はみられなかった。一方 *in vivo* では、癌幹細胞性を調べるため、高度免疫不全マウス(NOG)を使った造腫瘍能の比較を行った。すると、マウスに移植された HPCM2 は腫瘍を形成して順調に増大したのに対し、HPCM2-S100A10-KO 細胞は腫瘍を全く形成できなかった。以上の結果をまとめると、S100A10 は *in vivo* においては癌幹細胞性を大いに発揮しているようにも見えるが、*in vitro* においては癌幹細胞性の条件と一致しない事象もあった。したがって S100A10 は、癌幹細胞性の一部機能に大きく影響を与える因子ではあるが、幹細胞性の全体を統括的に制御しているとは言えないので、幹細胞性の維持に必須な因子ではないと考えられる。

(4)細胞骨格系の維持のための S100A10 の働き

S100A10 は細胞運動に欠かせない分子であることが分かってきたので、細胞骨格の異常を疑い、共焦点顕微鏡下でアクチンの可視化を行った。すると、HPCM2-S100A10-KO 細胞において、一部の繊維に走行の乱雑化が確認された。この現象は、HPCM2 細胞では観察されなかったので、S100A10 は正常な細胞骨格系の維持に必須であることが明らかとなった。今後、S100A10 が制御する骨格系異常の原因を探求することが必要である。

(5)患者腫瘍組織における S100A10 発現量と予後との相関

腫瘍組織における S100A10 発現の強弱と予後との関係について分析するため、舌癌手術検体に対して S100A10 の免疫組織染色を行ったところ、S100A10-low 発現の患者と比較して S100A10-high 患者では、OS(全生存期間)や DSS(疾患特異的生存期間)が有意に短いことが明示された。この結果から、S100A10 は頭頸部癌の悪性特性に関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小鎌直子
2. 発表標題 S100A10 regulates proliferation and migration of HNSCC cells through cytoskeleton control.
3. 学会等名 第80回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小鎌直子
2. 発表標題 S100A10 regulates proliferation and migration of HNSCC cells through cytoskeleton control
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------