

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20791536
 研究課題名（和文）腫瘍免疫学的観点から検索した予後と相関する分子腫瘍マーカーの探索
 研究課題名（英文）Search for molecular tumor marker that correlates to retrieved prognosis of tumor immunology
 研究代表者
 福間 大喜（FUKUMA DAIKI）
 熊本大学・医学部附属病院・医員
 研究者番号：40467981

研究成果の概要（和文）：我々は抗腫瘍免疫応答からのエスケープ機構の一因と考えられている、抗アポトーシス分子である Proteinase inhibitor 9 (PI9) が口腔癌に発現しているか否か、またその発現の程度が予後予測因子となりうるかについての解析を行ってきた。まず、口腔扁平上皮癌細胞株より m-RNA、Protein をそれぞれ抽出し、RT-PCR 法、Western blot 法を用いて、PI9 の発現の有無を解析したところ、それぞれ m-RNA、Protein レベルでの PI9 の発現を確認することができた。次に当科において口腔癌の一次治療を行った患者の臨床情報をデータベース化する作業を現在も引き続き継続している。また、患者サンプルを用いた予備実験を行い、口腔扁平上皮癌組織からそれぞれ抽出した m-RNA、Protein から PI9 の発現が認められた。またこれも予備実験の段階ではあるが、口腔癌患者の組織標本を用いて PI9 の免疫染色を行い解析した結果、癌部と非癌部での PI9 の発現の差が明確には認められなかった。

研究成果の概要（英文）：Proteinase inhibitor 9 (PI9), anti-apoptotic molecule expressed in oral squamous cell carcinoma but no statistical significance between carcinoma and non-carcinoma.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：遺伝子・癌・免疫学

1．研究開始当初の背景

申請者は大学院生時に遺伝子改変マウス胚性幹細胞（ES 細胞）由来樹状細胞を用いた抗原特異的抗腫瘍免疫応答の誘導に関する研究を行ってきた。そもそも ES 細胞は固有の遺伝的背景を有しているため、ヒト ES 細胞から分化誘導した樹状細胞（ES-DC）を用いる臨床応用においては、これを投与される患者（レシピエント）との間に HLA をはじめとした遺伝的背景の違いがあることが問題となる。しかしながら、ES-DC を特定の抗原に対する免疫応答を誘導することを目的として使用する場合は、理論的には移入される樹状細胞とレシピエントの間で HLA の一部が共有されていれば、共有された HLA に拘束性を有する抗原特異的な T 細胞を活性化させることにより、目的を達成することが可能であると考えられる。この点に関し、申請者は、アロ系統の ES-DC であっても、MHC が一部共有されていれば、抗原特異的な T 細胞を活性化し、また、当該抗原を発現する腫瘍細胞に対する拒絶能を誘導できることを、マウスモデルを用いて実験的に証明している。そして、その際に中心的な役割を果たしていると考えられている遺伝子、PI9 に今回着目した。この遺伝子が発現していることにより、

癌細胞は免疫系の監視機構からエスケープすることが可能になり、ひいては予後に大きく影響を及ぼしている可能性がある。既に血球系の癌においてはその発現と予後について報告がされているが、固形癌に関しては未だに報告は無い。そこで、この遺伝子の口腔扁平上皮癌における発現を明らかにし、臨床的な予後との相関を見いだすことができれば、予後予測因子として有用であることが証明でき、治療法選択の際の一助となりうるのではないかと考えられる。

2．研究の目的

口腔扁平上皮癌における PI9 の発現頻度を明らかにし、予後との相関の有無について検討する。

3．研究の方法

まず、予備実験として口腔扁平上皮癌細胞株を用いて m-RNA, whole protein を抽出し、PI9 の発現をそれぞれ RT-PCR 法、ウエスタンブロット法を用いて確認する。次に、患者の臨床検体を用いて、パラフィン包埋切片から PI9 の免疫染色を行う。また、患者の癌の

凍結標本より m-RNA, Protein を抽出し、同様に PI9 の発現をそれぞれ RT-PCR 法、ウエスタンブロット法を用いて確認する。と同時に個々の患者の臨床情報を元に、予後について検索し、PI9 の発現との相関があるか否か検討する。

4 . 研究成果

我々は抗腫瘍免疫応答からのエスケープ機構の一因と考えられている、抗アポトーシス分子である Proteinase inhibitor 9 (PI9) が口腔癌に発現しているか否か、またその発現の程度が予後予測因子となりうるかについての解析を行ってきた。まず、口腔扁平上皮癌細胞株より m-RNA, Protein をそれぞれ抽出し、RT-PCR 法、Western blot 法を用いて、PI9 の発現の有無を解析したところ、それぞれ m-RNA, Protein レベルでの PI9 の発現を確認することができた。次に当科において口腔癌の一次治療を行った患者の臨床情報（年齢、性別、原発部位、TNM 分類、組織型、術前化学放射線療法の有無とその効果、5 年生存率など）をデータベース化する作業を現在も引き続き継続している。このデータベースは膨大な情報量な上に患者の個人情報でもあり、院外持ち出しができないので、作業を行う場が限られ、思いの外難航している。また、患者サンプルを用いた予備実験を行い、口腔扁平上皮癌組織からそれぞれ抽出した m-RNA, Protein から PI9 の発現が認められた。またこれも予備実験の段階ではあるが、口腔癌患者の組織標本を用いて PI9 の免疫染

色を行い解析した結果、癌部と非癌部での PI9 の発現の差が明確には認められなかった。今後の課題として、各癌患者における PI9 の発現を可能な限り規模の大きな後ろ向きコホート解析を行う必要がある。そこから口腔癌患者のがん細胞における PI9 の発現頻度を明らかにし、また、その結果明らかとなった PI9 の発現量が患者の臨床情報とどのように相関があるのかを解析せねばならない。そこから PI9 が予後不良因子であるのならば、術前の生検時に PI9 の発現を確認し、その情報をもとに以後の治療法の選択の一助とすることで、患者に適切な治療を提供することが可能になるものと思われる。

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)

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

福間 大喜 (FUKUMA DAIKI)
熊本大学・医学部付属病院・医員
研究者番号：40467981

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：