

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：35307
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2020～2022
課題番号：20K07667
研究課題名(和文) CD81を標的とする新規がん治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of anti-tumor drugs targeting CD81

研究代表者

中西 徹 (Nakanishi, Tohru)

就実大学・薬学部・教授

研究者番号：30243463

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)：頭頸部がんの中でも唾液腺導管がんについて、CD81の発現や細胞増殖への影響を調べた。手術時に摘出組織の一部を採取し初代培養を試み、これらを唾液腺導管がん由来細胞として使用した。免疫染色ではCD81の発現が確認された。また定量RT-PCRでは、CD81遺伝子の高い発現が見られた。細胞増殖に及ぼすCD81の影響の評価を、CD81siRNA或いは抗CD81抗体存在下、細胞増殖を調べることで実施した。その結果、CD81siRNAの添加においても抗CD81抗体の添加によっても細胞の増殖が抑制された。これらの結果は、唾液腺導管がんにおいてCD81分子がその増殖に大きな役割を果たしていることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

4回膜貫通タンパク質テトラスパニンCD81分子及びCD81遺伝子とがんの増殖或いは転移との関りについて、既に骨肉腫細胞に関して、CD81遺伝子を破壊すると、細胞の増殖が抑制され、特に細胞の転移がほぼ100%抑えられることを示したが、次に比較的例数が少なくまだ研究が進んでいない頭頸部がんに着目して研究を進めてきた。今回の結果は、唾液腺導管がんにおいても、CD81分子がその造成や増殖に大きな役割を果たしていることを示唆している。これらのがんにおいて、CD81を標的にした新しい治療法の開発が今後期待され、本研究がそのプレイクスルーとなる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In order to analyze the expression of CD81 in parotid cancer tissues and the effect of CD81 on cell proliferation, we prepared single cell culture from clinically isolated parotid cancer tissues. The immunohistochemical expression of CD81 at the tumor cell membrane was found in tissues. Inhibition of CD81 expression with siRNA suppressed the growth of parotid cancer cell lines. Mouse monoclonal antibodies to CD81 established by T.N. inhibited parotid cancer cell growth in a concentration-dependent manner.

研究分野：生化学、分子生物学

キーワード：CD81 頭頸部がん siRNA 定量PCR 免疫染色

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

4 回膜貫通タンパク質テトラスパニン CD81 は、炎症等に関わる因子である。我々は当初、関節リウマチの原因因子として、このタンパク質及び遺伝子を見出した。CD81 を siRNA で抑制すると関節の腫れが抑えられることから、CD81 を標的とする関節リウマチ治療を目指して治療用抗体や遺伝子治療ベクターを開発した。CD81 は、シノビオリンを活性化してアポトーシスを抑制し、滑膜細胞の増殖を促進すると共に、炎症性サイトカインの発現を誘導することが明らかとなったが、このことは CD81 が、がんの発症にも関与することを示唆した。そこで骨肉腫細胞において CD81 を抑制すると、がんの増殖が抑えられるばかりでなく、がんの転移が抑えられることがわかり、CD81 ががん治療の標的分子としても浮上してきた。

2. 研究の目的

上記のような背景のもとで、CD81 が癌治療の標的になりうることをさらに確認すると共に、骨肉腫以外のがんにおいても有効であるかを検証することを目的として、研究を行った。骨肉腫以外のがんとしては、比較的例数が少なく、まだ有効な治療法が確立されていない、頭頸部がん、特に唾液腺がんを対象疾患として選定し、研究を行った。既に 2019 年に、骨肉腫について、ゲノム編集法で CD81 遺伝子を破壊したがん細胞を作製して、転移がほぼ 100%抑制されることを発表しており、この実績に基づいて研究を進めることとした。

3. 研究の方法

研究倫理委員会の承認のもとで、耳下腺がん手術時に摘出組織の一部を採取し、細胞株樹立のため培養したものを唾液腺導管がん由来細胞の材料とした。CD81 の発現は免疫組織染色や定量 PCR 法により解析した。細胞増殖に及ぼす CD81 の影響は、CD81siRNA の添加及び代表者が樹立した抗 CD81 マウスモノクローナル抗体の添加によって行い、細胞増殖測定キットを用いて増殖の程度を判定した。

4. 研究成果

唾液腺導管がん由来細胞における CD81 の発現を、免疫組織染色や定量 PCR 法により解析した。免疫染色によって、SDC や MEC の症例において CD81 の発現が確認された。また定量 PCR では、特に SDC で CD81 の高い発現がみられた。細胞増殖に及ぼす CD81 の影響を、CD81siRNA 或いは代表者が樹立した抗 CD81LEL マウスモノクローナル抗体存在下、唾液腺導管がん由来細胞の増殖を調べることで判定した。その結果、4 種の CD81siRNA のうち、3 種の添加において、それぞれの場合で細胞の増殖が抑制された。また、IgG 型或いは IgM 型の抗 CD81 モノクローナル抗体の添加によっても細胞の増殖が抑制された。これらの結果は、唾液腺導管がんにおいても、CD81 がその造成や増殖に大きな役割を果たしていることを示唆している。また、これらのがんを含む多くのがんで CD81 は、その病態に大きな影響を与えていることが予想される。CD81 を標的とする新しいがん治療法の開発が今後、期待される場所である。

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 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 濱田、小越、諏訪 他	4. 巻 71
2. 論文標題 耳下腺がんにおけるCD81の発現とその病態への関与	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本口腔科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 63-64
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 濱田、小越、諏訪他
2. 発表標題 唾液腺導管癌におけるテトラスパニンCD81の発現と細胞増殖への影響
3. 学会等名 日本口腔科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱田、小越、山根木他
2. 発表標題 耳下腺がんにおけるCD81の発現解析
3. 学会等名 日本口腔外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中西、溝尻、白井 他
2. 発表標題 ヒト骨肉腫細胞におけるCD81の発現とその増殖及び転移への関与
3. 学会等名 日本口腔腫瘍学会
4. 発表年 2023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
研究 分担者	新井 祐志 (Arai Yuji) (50347449)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (24303)	
研究 分担者	長塚 仁 (Nagatsuka Hitoshi) (70237535)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究 分担者	山崎 勤 (Yamasaki Tsutomu) (80596148)	就実大学・薬学部・講師 (35307)	

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