

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 2 月 28 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390541

研究課題名（和文） 口腔癌幹細胞の同定と性状の解析—エピジェネティクス制御の役割解析と治療への応用—

研究課題名（英文） The identification of the oral cancer stem cell and analysis of the property—Role analysis of the epigenetic regulation and application to treatment—

研究代表者

篠原 正徳（SHINOHARA MASANORI）

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：90117127

研究成果の概要（和文）：（1）癌幹細胞由来または癌幹細胞と関連する DNA を、DNA メチル化異常をもつ DNA として検出し検索することによって癌幹細胞の存在診断が可能となることが示唆された。（2）DNA のメチル化異常と癌幹細胞の性質の関連について検索することによって癌の性質診断（転移能、薬剤耐性能の診断）が可能となることが示唆された。（3）DNA メチル化異常を利用して癌幹細胞を診断することが可能となることが示唆された。（4）メチル化 DNA の脱メチル化によって癌幹細胞の転写抑制を回復させることができ、治療への応用が可能であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The importance of DNA methylation in the transcriptional silencing of tumor suppressor genes is recognized in cancer stem cell. Genome-wide hypomethylation has also been reported in cancer stem cell and has been associated with genetic instability. In this study, we analyzed methylation of tumor suppressor gene of oral squamous cell carcinoma. The results suggest that epigenetic inactivation of tumor suppresser gene play an important role in pathogenesis of cancer stem cell and many genes may be a useful molecular target for the diagnosis and treatment for cancer stem cell.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	6,500,000	1,950,000	8,450,000
2010 年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2011 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

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：癌幹細胞、DNA メチル化異常、エピジェネティクス、がん抑制遺伝子、口腔扁平上皮癌、転移、薬剤耐性

1. 研究開始当初の背景

（1）癌幹細胞は薬剤排出能・DNA 修復能が高く、抗癌剤・放射線治療に抵抗性であるため、癌幹細胞が選択的に生き残る確率は高く再発し

てくると考えられる。そのため、癌幹細胞という概念の導入により癌幹細胞を治療の標的とした癌治療研究がはじまり、癌幹細胞を分

化誘導して治療するという新しい治療法も報告されている。

(2) 癌幹細胞の特性については、癌幹細胞を濃縮しその性状解析が進められている。しかし、その精製度は真に癌幹細胞の性状を明らかにするには十分でない現状である。今までわかっている癌幹細胞の特徴は、①組織幹細胞特異的因子を発現している、②組織幹細胞の維持にかかわる分子機構を有している、③形質転換に働く遺伝子変異を有している、④癌化に伴い全染色体レベルで遺伝子発現変化がある、などである。

(3) 組織幹細胞維持に対するニッチの重要な役割が生物種を超えて報告されている。癌幹細胞がニッチ内では休止状態で維持されている可能性とともに、癌幹細胞を取り巻くニッチの詳細な解析が癌治療のために必要である。

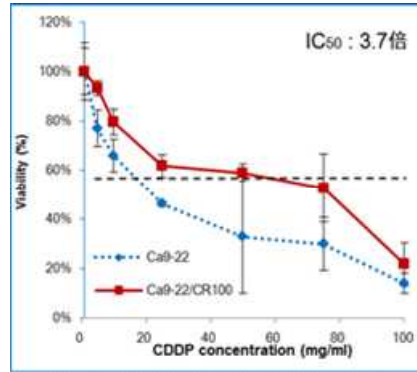
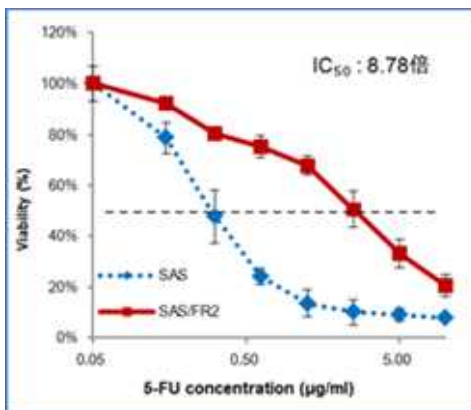
(4) 癌治療には癌幹細胞とニッチを標的とした新規治療法と増殖する癌前駆細胞を殺傷する既存の治療法の組み合わせが有効と考えられる。さらに、癌におけるエピジェネティクス制御異常の解除を目指した治療が試みられている。

2. 研究の目的

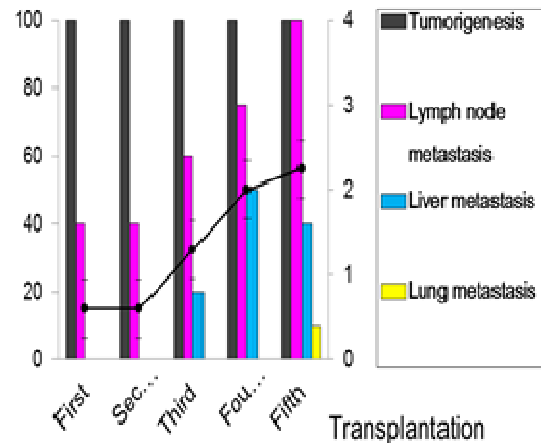
癌幹細胞が癌の発生、増殖、進展、さらには治療に対する耐性などで重要な関わりをもつことが知られてきたが、その同定法、さらにはその性状については未だほとんど解明されていない。そのため、今後新規の精製法を確立し、起源細胞の異なる各種癌幹細胞の作成、その性状解析、治療標的・方法の検討が新たな癌治療法の開発につながると考えられる。今回の検索では(1) 口腔扁平上皮癌幹細胞の同定法の確立、(2) 癌幹細胞の性状の解析：①遺伝子を標的とした解析、②エピジェネティック解析 (DNA メチル化異常の診断)、③癌幹細胞の遺伝子発現のマイクロアレ解析を行い癌幹細胞の性状を解析する、(3) 癌幹細胞を標的とした癌治療法の確立を目指し、その後の研究、治療法開発の基礎データとなる知見の収集と理論的体系の形成を行う。

3. 研究の方法

癌幹細胞 (高薬剤耐性株、高転移株) の作成：
高薬剤耐性株：SASヒト口腔扁平上皮癌細胞株にCDDP, 5-FU添加培地中で培養し、生存する細胞をさらに高濃度のCDDP, 5-FU を添加した培養液中で増殖させた。5-FU については濃度を 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ から徐々に増加させ、最終的に 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で生存可能な細胞 (SAS/R2.0) を得た。



高転移株：1. 口腔扁平上皮癌細胞株SAS およびHSC-3を0.05%トリプシン、EDTAではがし、回収する。2. BALB/c nu/nu (female 6W)の舌に 5×10^5 個移植。3. 3週間後に転移した頸部リンパ節を実体顕微鏡で確認しながら摘出し、摘出したリンパ節の一部は冷凍保存し、残りは生理食塩水で洗浄後培養する。4. 約2週間培養すると2~3回継代することになる。5. できた細胞株は転移株として冷凍保存しておく。6. また、再度マウスの舌に 5×10^5 個移植する。これを繰り返し行い、高転移株を樹立した。



生体材料：治療前に生検を行い、これらの組織の一部をホルマリン固定して顕微鏡用標本とし、一部を凍結切片用組織とし、他を-80度以下で凍結保存し各種検査に使用した。

(1) **癌幹細胞の同定** ①癌幹細胞の同定、濃縮法：1) **sphere 形成法**：各種口腔癌細胞株ならびに腫瘍組織を酵素処理して腫瘍細胞懸濁液を作り、sphere を構成状態を検索する。2) **CD133, CD44 による濃縮法**：sphere 形成法で濃縮した細胞細胞に対して、蛍光付きCD133抗体、CD44抗体を使用しセルソーターで細胞を分離する。3) **色素排出能を利用した濃縮法 (side population 法)**：DNA 結合色素ヘキスト33342 で細胞を染色し、色素排出能の低い細胞は色素を取り込み蛍光強度の高い細胞としてセルソーターされる。Non-SP 細胞は高輝度の細胞としてドットグラフの中央にあつまり、SP 細胞 (癌幹細胞) はABC トランスポーターを発現し色素排出能が高いため低輝度でドットグラフの左寄りに集まる。この方法でSP 細胞を採取する。

(2) 癌幹細胞の性状の検索:

①遺伝子を標的とした性状解析: 1) CD44+, CD24-細胞での、Wnt, Hedgehog, TGF- β シグナルに関する遺伝子発現について、2) CD44+, CD24-細胞でのmiRNA の発現について、3) 組織幹細胞特異的因子 (Nucleostemin) の発現について検討する。

②エピジェネティック解析: 1) DNA メチル化異常の診断的応用: 今回の検索では、A) 癌幹細胞の存在診断、B) 癌幹細胞の性状診断について検討する。

A) 癌幹細胞の存在診断: 癌幹細胞または前駆細胞と終分化した機能細胞のDNA を、DNA メチル化異常をもつDNA として検出しこれらと比較検討して癌幹細胞の性状を解析する。

a) 癌幹細胞で高頻度にメチル化異常を示すCGI 出現状態を検索する。さらに、CGH 法などにより検出されたコピー数の異常を示す染色体領域のメチル化DNA および非メチル化DNA の有無を判定する。b) 臨床材料 (癌患者の生検材料ならびに血漿中に存在する癌幹細胞の遊離DNA) を用いてメチル化異常を示すCGI 出現状態を検索する。

B) 癌幹細胞の性状診断: DNA のメチル化異常と癌幹細胞の性質の関連について検索する。

a) 癌幹細胞と親株のメチル化されているCGI の差異の有無について検索する。さらにCGH 法などにより検出されたコピー数の異常を示す染色体領域のメチル化異常状態を検索する。b) 癌患者の生検材料を用いて高転移症例と非転移症例、薬剤耐性症例と非耐性症例での癌幹細胞のメチル化されているCGI の差異の有無について検索する。

メチル化異常を調べる解析法: 今回の検索では、DNA メチル化異常のゲノム網羅的な解析はMS-RDA 法で、個々の遺伝子のメチル化状態の解析はMethylation-specific PCR (MSP) 法にて行う。また、遺伝子の解析はa) CGH 分析による遺伝子領域の増幅 (コピー数) の異常 (CNA) 検索、b) STS (sequence tagged sites) マーカーを用いての遺伝子領域のポジショナルクローニング、c) 染色体領域内の遺伝子の定量的RT-PCR により測定、d) CGH アレイおよびcDNA アレイ解析による検索、e) FISH (蛍光 in situ hybridization) 法により染色体欠失ならびに増幅地図を作成する。

(3) 癌幹細胞に対しての治療法の検討

癌幹細胞を標的とした治療法の開発: ①幹細胞複製因子を標的とした治療法の検討: A) Shh, Wnt, Notch のシグナルを選択的に阻害、②幹細胞の薬剤耐性機構に注目した治療法の検討: 新規のATP transporter の阻害剤での追試を行う。

③癌幹細胞を分化させる治療薬の開発: 癌幹細胞を分化させる薬剤は現在臨床で用いられているレチノイン酸だけである。そこで、本剤を用いて癌幹細胞の分化誘導と治療剤としての効果を検索する。

④DNA メチル化異常の治療的応用: A) 脱メチル化剤による治療について、B) 配列特異的な脱メチル化剤の可能性について検討する

4. 研究成果

(1) 癌幹細胞の同定

口腔扁平上皮癌の癌幹細胞の明確な同定マーカーが確立されていないため、1. 今回はまず、口腔扁平上皮癌株の高転移株と薬剤耐性株を作成し、本細胞株と親株の違いを検討

した。2. 次に治療前の生検組織について検索した。非転移症例と高転移症例、化学放射線療法の高効果症例と非効果症例 (薬剤耐性症例) について検討した。

①癌幹細胞の同定、濃縮法:

1) sphere 形成法: 各種口腔癌細胞株ならびに腫瘍組織を酵素処理して腫瘍細胞懸濁液を作り、EGF, FGF 入り無血清培地で細胞を培養し、数日後に形成されたsphere (浮遊細胞塊) を採取した。その結果、口腔扁平上皮癌株の高転移株、高耐性株ではsphere 形成がみられ、これらの細胞を採取、培養しさらなる検索に使用した。一方、親株ではsphere 形成はほとんど見られなかった。生検組織ではsphere 形成に差は見られなかった。このことより、高転移株と薬剤耐性株には癌幹細胞が多く比率を占めている可能性が示唆された。

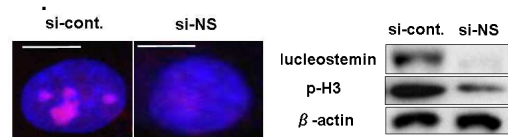
2) CD133, CD44 による濃縮法: sphere 形成法で濃縮した細胞に対して、CD133+細胞, CD44+細胞を蛍光付きCD133 抗体、CD44抗体を使用しセルソーターでCD133+細胞、CD44+細胞を分離した。その結果、CD133+細胞はほとんど認められず、大部分の細胞がCD44+細胞であった。このことから口腔扁平上皮癌においては細胞表面マーカーであるCD44分画が有力な癌幹細胞マーカーである可能性が示唆された。さらに、CD44+CD24-細胞が多く含まれていることが判明した。

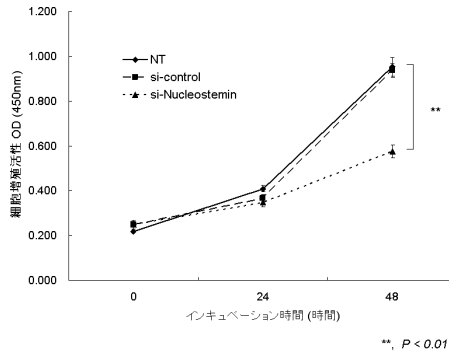
3) 色素排出能を利用した濃縮法 (side populatio 法): sphere 形成した細胞についてはほとんどがSP細胞であった。さらに、口腔扁平上皮癌株の高転移株、高薬剤耐性株ではSP細胞を親株よりも多く検出された。生検組織ではsphere 形成に差は見られなかった。

(2) 癌幹細胞の性状の検索:

①遺伝子を標的とした性状解析 1) CD44+, CD24-細胞のみがマウスに腫瘍を形成し、これら細胞では、Wnt, Hedgehog, TGF- β シグナルに関する遺伝子発現が亢進していた。2) セルソーターを用いて単離した高転移株、高薬剤耐性株と親細胞からRNA を抽出し、Applied Biosystems 社で開発されたReal-time PCR 法にてmiRNA の発現を比較検討した。検討した230個中20個のmiRNA が高転移株、高薬剤耐性株細胞において、親細胞と比較して恒常的に発現が亢進または抑制されていた。さらに、高転移株、高薬剤耐性株細胞で選択的に抑制されているmiRNA はmiRNA クラスターに集中していた。このことは、癌幹細胞とその他の癌細胞の本質的な違いはエピジェネティックなもの可能性を示唆するものと考えられた。

3) 組織幹細胞特異的因子 (Nucleostemin) の発現について: Nucleostemin は癌細胞の増殖活性維持に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。増殖抑制はp53非依存的に起こっており、その機構にはp21 やp27 の転写レベルでの制御が関与している可能性が考えられた。





② エピジェネティック解析

1) DNA メチル化異常の診断的応用:

A) 癌幹細胞の存在診断:

(A) 癌幹細胞株、生検癌組織: 生検組織からは明らかな癌幹細胞を検出できなかったため、細胞株での検索のみをおこなった。①CGH法などにより検出されたコピー数の異常を示す染色体領域のメチル化DNAおよび非メチル化DNAの有無の判定: CGH分析結果: CDKN2B(p15)、CDKN2A(P16)、PTC、WT1、MLH1の亢進が認められた。RB、CDH1(E-カドヘリン)、P53、BRCA1の低下が認められた。②MS-PCR法検索結果: APC、ARF、BNIP3、BRCA1、CDKN2A(P16)、CDKN2B(P15)、CDH1(E-cadherin)、CHFR、Cyclin D2、PTC、ER、FHIT、GSTP1、LOX、MGMT、MLH1、PTC、RAR、RASSF2A、RB、RUNX3、SFRP1、TSLC1、VHL、WT1、の癌抑制遺伝子について検索した。その結果、扁平上皮癌幹細胞でのDNAメチル化により著明に不活化されたがん遺伝子はARF、BRCA1、CDH1、CDKN2A(p16)、CDKN2B(p15)、DAPK1、GSTP1、PTC、RB、WT1であった。以上より、多くの癌抑制遺伝子は染色体欠失・点突然変異によって不活化されると同様に、DNAメチル化異常によっても不活化されていると考えられた。

B) 癌の性状診断: 口腔扁平上皮癌症例中より、転移症例30症例、非転移症例30例、薬剤耐性症例10症例、効果症例20症例、さらに、高度転移細胞株群、薬剤耐性株(癌幹細胞群)と親株について検索した。

(A) 癌幹細胞株(転移細胞株群)、転移症例でCANの増加が認められ、FISHシグナルの遺伝子コピー数変化を認めた染色体領域と遺伝子は1q25(GLUL)、5p13(SKP2)、8q24(c-myc)、9p21(P16)、9q22(PTC)、15q24.3(BL2A1)、17q21(erbB2)、17q25.3(EVIN1)、18p11(GNAL)、20q13.2(ZNF217)、20p23(CST3)あり、この内、増幅が認められた染色体領域は11p13(WT1)、13q11-q12(GF9)、Xq22(GAL)、Xp22(DIAPH2)であった。CANの低下がみられた領域は8q13(TERF1)、16q22(E-カドヘリン)、17pter-q21(BRCA1)であった。DNA

メチル化異常ではRB、CDH1(E-カドヘリン)、P53、BRCA1の低下が認められた。

MS-PCR法検索でメチル化異常が認められた遺伝子: a) HER2(ERBB2)(17q21)、c-MYC遺伝子(8q24)、TIMP3、CDKN2B(p15)、CDKN2A(P16)、PTC、WT1、MLH1の増加が認められた。

b) 一方、RB、CDH1(E-カドヘリン)、P53、BRCA1の低下が認められた。

(B) 癌幹細胞株(薬剤耐性株)、薬剤耐性

症例: ①CANの増加が認められ、FISHシグナルの遺伝子コピー数変化を認めたもの: a) コピー数の増幅がみとめられた遺伝子領域: 6q22-24、11q13、14q、1q21-22領(MUC1)、13q12-14 b) コピー数の減少が示唆された領域: 6p13.1(MRP)、17q13.1(TP53)、17q25、18q21.33(BCL2)、20q13 ②メチル化で下がる遺伝子はhMLH1、CHFR、HER2(ERBB2)、c-MY、SRC、MGMT、HRK、DAPK、BASSF2、MAD2L1、MAD2L2、EB1であった。

(2) 癌幹細胞に対しての治療法の検討: 癌幹細胞を標的とした治療法の開発

① 幹細胞複製因子を標的とした治療法の検討:

正常な幹細胞に自己複製に働く、Wnt、Sonic Hedgehog(Shh)、Notchなどの分子は癌の原因因子でもある。したがって、これらの分子を標的とした薬剤は癌幹細胞に自己複製を阻害することで、癌幹細胞を除去できる可能性が考えられる。

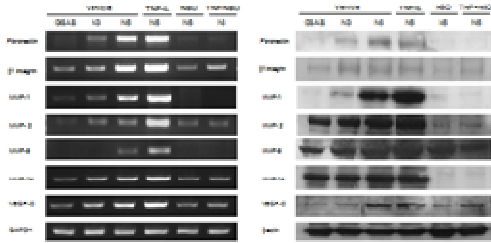
A) Shhのシグナルを選択的に阻害する植物性アルカロイドのサイクロパミン(cyclopamine)で扁平上皮癌幹細胞の増殖が抑制された。B) 扁平上皮癌幹細胞でエグジスリンド(exisulind)とその誘導体であるcGMP-PDEを阻害するとprotein kinase Gを活性化され、Wnt-βカテニンのシグナル経路が抑制された。C) γセレクトラーゼの阻害剤で扁平上皮癌幹細胞を処理するとNotchシグナルが抑制された。以上の結果より、これらの阻害剤は癌幹細胞の自己複製を阻害することで、癌幹細胞を除去出来る可能性が示唆された。

② 幹細胞の薬剤耐性機構に注目した治療法の検討:

癌幹細胞が抗癌剤に耐性である原因として、ABC(ATP-binding cassette) transporterの高発現が報告されているためATP transporterの阻害剤の可能性について検討した。次に新規耐性因子の同定のため、耐性株(癌幹細胞)親株よりmRNAを抽出し、DNAマイクロアレイ解析を行い、比較検討をおこなった。

40,985種類のプローブを使用して検索し、耐性株にて有意に増加→801種、薬剤耐性株にて有意な低下→634種類であった。特に、アポトーシス阻害蛋白として抗癌剤耐性との関連が報告され始めたcIAP2の3つの分子が有意に耐性株で上昇していた(TS:2.6倍、TP:2.34倍、cIAP2:3.78倍)。薬剤排泄膜タンパクであるP糖タンパクをコードするABCトランスポーターファミリーは今回のマイクロアレイ解析では有意な変動は見られなかった。転移株にも同様の検討をおこなった結果、NF-κBに関連する遺伝子の増加が認められた。

高転移性OSCCにおける、NF- κ B制御下の
転移関連分子の発現



以上より、従来の抗癌剤は細胞分裂を阻害する機能をもつことから、休止期の癌幹細胞に十分な効果は期待できない。そこで、癌幹細胞の休止化を阻害するためには癌幹細胞を分化させ幹細胞の状態から離脱させることが求められる。

③癌幹細胞を分化させる治療薬の開発：癌幹細胞の休止化を阻害するためには癌幹細胞を分化させ幹細胞の状態から離脱させることが求められる。癌幹細胞を分化させる薬剤は現在臨床で用いられているレチノイン酸だけである。そこで、本剤を用いて癌幹細胞の分化誘導と治療剤としての効果を検索した。その結果、レチノイン酸で処理することによってG0期の細胞の減少がみられた。このことは、臨床において、癌幹細胞の治療戦略になる可能性が示唆された。

④DNAメチル化異常の治療的応用：エピジェネティクスも癌幹細胞分化を制御する重要なシステムであり、ヒストンデアセチラーゼ (HDAC) の阻害剤が抗癌剤として開発されている。HDAC阻害剤としてはスベイルアニリドヒドロキサム酸 (SAHA) に代表されるヒドロキサム酸系化合物を用いた。その結果、高転移細胞株、薬剤耐性株において、転移能の低下、薬剤耐性能の低下、さらに分化促進や増殖阻害などが観察され、これら脱メチル化剤の治療薬としての可能性が示唆された。

⑤ヌードマウスモデルでの脱メチル化治療：ヌードマウス舌に、扁平上皮癌幹細胞株を移植し、これをDNAメチル化阻害剤 (5-aza-2'-deoxycytidine) で脱メチル化した。その後、転移能の検討、さらに、5-FU, CDDPでの腫瘍縮小効果を判定した。その結果、転移の抑制が認められた、さらに、抗癌剤による腫瘍増殖の抑制が認められた。

2. DNAメチル化異常の治療的応用：

(1) 脱メチル化剤による治療：高転移細胞株、薬剤耐性株を脱メチル化剤で処理し、処理された細胞株と処理前の細胞株とでメチル化されているCGIの差異について検討した。メチル化阻害剤 (5-aza-dC) とヒストンアセチル化阻害剤 (trichostatin A) を使用した。

(A) DNAメチル化により不活化されていた癌幹細胞のがん抑制遺伝子：APC, ARF, BNIP3, BRCA1, CCND1, CDH1 (E-cadherin), CDKN2A (P16), CDKN2B (P15), Cyclin D2, DAPK1, ER, GSTP1, HER2 (ERBB2), MGMT, p53, PTC, RARB, RASSF2A, RB, VHL, WT1であった。

(B) 癌幹細胞株でメチル化阻害剤、ヒストンアセチル化阻害剤でサイレンシングが著明に解除された癌関連遺伝子：APC, ARF, BRCA1, CCND1, CDH1, CDKN2A (p16), CDKN2B (p15), TPC, DAPK1, FOXE1, GSTP1, HER2 (ERBB2), LHX1, NPTX2, MLH1, MGMT, p53, RASSF2A, RB, WT1であった。これらの遺伝子がメチル化治療の標的となりえる可能性が示唆された。

①癌幹細胞株ではHER2 (ERBB2), CDKN2B (p15), CDKN2A (P16), PTC, WT1, MLH1の脱メチル化で転移能の減少が認められた。

②薬剤耐性の改善：BASSF2, BNIP3, BRCA1, BUB1, CHFR, c-MYC, DAPK, EB1, HER2 (ERBB2), hMLH1, MAD2L1, MGMTの脱メチル化で薬剤耐性能の減少が認められた。分裂期チェックポイントに関連する遺伝子、アポトーシス関連遺伝子の脱メチル化が薬剤耐性治療として有効であることが示唆された。しかし、DNAメチル化阻害剤によるDNA脱メチル化の程度は各細胞株で反応濃度が異なり、高濃度の薬剤は細胞毒性をしめし、高度のメチル化は染色体不安定性を誘発する。脱メチル化剤は癌細胞でのDNMT1の枯渇を誘導する最低濃度を用いることが有用と考えられた。

配列特異的な脱メチル化剤の可能性について：

癌におけるエピジェネティクス制御異常の解除を目指した治療が試みられている。その中心はDNAメチル化阻害剤とHDAC阻害剤である。脱メチル化剤の有用性が報告されているが、脱メチル化剤処理によって発現が回復した遺伝子群が、投与中止によって再度silencingの状態に逆戻りする現象が確認されている。これは脱メチル化処理後に遺伝子プロモーターはbivalentな状態に戻り、転写が活性化するものの、H3K9me3やH3K27me3の修飾が消去されないからであり、癌幹細胞の駆逐という観点からは、脱メチル化状態においてさらなる分化療法を追加する必要がある。TSA (trichostatin A) をはじめとするHDAC阻害剤の活用が必要である。さらに、DNAメチル化阻害剤とHDAC阻害剤の組み合わせによる、癌におけるエピジェネティクス制御異常の解除を目指した治療が望まれる。ポリコム遺伝子群をはじめとする分子群による癌特異的なエピジェネティクス制御が癌幹細胞の成立・維持に重要な役割を果たしていることが明らかになったが、癌幹細胞の駆逐を目的とした新規治療法の開発のためには、正常な幹細胞システムと癌幹細胞システムの共通点および相違点を十分に知る必要があり、癌幹細胞のエピジェネティクスは今後これらの課題を解決する上で重要な領域であると考えられる。

まとめ：

(1) 癌幹細胞由来または癌幹細胞と関連するDNAを、DNAメチル化異常をもつDNAとして検出し検索することによって癌幹細胞の存在診断が可能となることが示唆された。
(2) DNAのメチル化異常と癌幹細胞の性質の関連について検索することによって癌の性

質診断（転移能、薬剤耐性能の診断）が可能となることが示唆された。(3) DNA メチル化異常を利用して癌幹細胞を診断することが可能となることが示唆された。(4) メチル化 DNA の脱メチル化によって癌幹細胞の転写抑制を回復させることができ、治療への応用が可能であることが示唆された。

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 8 件)

- ① Tanaka T., Nakayama H., Yoshitake Y., Irie A., Nagata M., Kawahara K., Takamune Y., Yoshida R., Nakagawa Y., Ogi H., Shinriki S., Ota K., Hiraki A., Ikebe T., Nishimura Y., Shinohara M.: Selective inhibition of NF- κ B by NBD peptide suppresses the metastasis of highly metastatic oral squamous cell carcinoma. **Cancer Sci** 103: 455-463, 2012.
- ② Ota T, Jono H, Ota K, Shinriki S, Ueda M, Sueyoshi T, Nakatani K, Hiraishi Y, Wada T, Fujita S, Obayashi K, Shinohara M., Ando Y. : Downregulation of midkine induces cisplatin resistance in human oral squamous cell carcinoma. **Oncol Rep.** 27: 1674-1680, 2012.
- ③ Hirosue A, Ishihara K, Tokunaga K, Watanabe T, Saitoh N, Nakamoto M, Chandra T, Narita M, Shinohara M., Nakao M: Quantitative assessment of higher-order chromatin structure of the INK4/ARF locus in human senescent cells. **Aging Cell.** 11(3):553-556, 2012
- ④ Shinriki S, Jono H, Ueda M, Ota K, Ota T, Sueyoshi T, Oike Y, Ibusuki M, Hiraki A, Nakayama H, Shinohara M., Ando Y. : Interleukin-6 signalling regulates vascular endothelial growth factor-C synthesis and lymphangiogenesis in human oral squamous cell carcinoma. **J Pathol** 225:142-150, 2011
- ⑤ Nagata M, Nakayama H, Tanaka T, Yoshida R, Yoshitake Y, Fukuma D, Kōta K, Awahara K, Nakagawa Y, Hiraki A, Shinohara M. : Overexpression of cIAP2 contributes to 5-FU resistance and a poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. **Br J Cancer.** 105:1322-1330. 2011.
- ⑥ Ito T, Yoshida R, Fujimoto, T, Kudoh S, Nagata M, Nakayama H, Shinohara M : Nucleostemin affects the

proliferation but not differentiation of oral squamous cell carcinoma cells.

Cancer Science: 102:1418-23, 2011

- ④ Ota K., Fujimori H., Ueda M., Jono H., Shinriki S., Ota T., Sueyoshi T., Taura M., Taguchi A., Kai H., Shinohara M., Ando Y. : Midkine expression is correlated with an adverse prognosis and is down-regulated by p53 in oral squamous cell carcinoma. **Int J Oncol.** 37:397-808, 2010.
- ⑧ Shinriki S., Jono H., Ota K., Ueda M., Kudo M., Ota T., Oike Y., Endo M., Ibusuki M., Hiraki A., Nakayama H., Yoshitake Y., Shinohara M., Ando Y. : Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody suppresses tumor angiogenesis and vivo growth of human oral squamous cell carcinoma. **Clin Cancer Res** 15: 5426 -5434, 2009.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篠原正徳 (SHINOHARA MASANORI)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：90117127

(2) 研究分担者

平木昭光 (HIRAKI AKIMITSU)
熊本大学・大学院生命科学研究部・講師
研究者番号：60404034

中山秀樹 (NAKAYAMA HIDEKI)
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教
研究者番号：70381001