

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 24 年 5 月 25 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592552

研究課題名（和文）口腔扁平上皮癌における Aurora キナーゼの分子病態の解明とその治療戦略への応用

研究課題名（英文）The elucidation of molecule morbidity of Aurora kinase in oral squamous cell carcinoma, and the application to the medical treatment strategy

研究代表者

近藤 誠二（KONDO SEIJI）

昭和大学・歯学部・准教授

研究者番号：10432634

研究成果の概要（和文）：口腔扁平上皮癌において Aurora を標的とした治療戦略を考える上で Aurora の分子背景（発現パターン、活性化機構）および病理学的意義の解明を目的とした。口腔扁平上皮癌細胞株を使用して、GFP 融合の各 Aurora タンパク安定発現扁平上皮癌細胞株の樹立を試み、共焦点レーザー顕微鏡を駆使して各 Aurora の細胞内動態をリアルタイムに可視化することに成功した。口腔扁平上皮癌において Aurora が有効な分子標的である可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：It aimed at the elucidation of a molecule background (an expression pattern, an activation mechanism) and pathological significance under considering the medical treatment strategy which made Aurora the target. Establishment of stable expression of each Aurora protein that fused GFP in squamous cell carcinoma cell line was tried, and it succeeded in visualizing the intracellular dynamic state of each Aurora in real time by using of a confocal laser scanning microscope. A possibility that Aurora was an effective molecule target was shown.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,500,000 円	450,000 円	1,950,000 円
2010 年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
2011 年度	900,000 円	270,000 円	1,170,000 円
年度			
年度			
総計	3,500,000 円	1,050,000 円	4,550,000 円

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：分裂期キナーゼ

1. 研究開始当初の背景

Aurora キナーゼは 90 年代初頭に発見された細胞周期制御分子の一つで、G2/M 期特異的に活性化するセリン/スレオニンキナーゼである。癌遺伝子としての側面も有し、乳癌や大腸癌を始めとするヒトの癌腫で Aurora の過剰発現が報告され標的タンパク質の過剰なリン酸化が癌形質の維持に重要な役割を果たしていると考えられている。Aurora の詳細な機能と発現異常の解析は癌の生物学的興

味に留まらず、Aurora に依存度の高い悪性腫瘍に対する分子標的治療薬の開発、応用の観点から大変重要である。

2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌が Aurora に依存度の高い悪性腫瘍であるのか確認することは、とりもなおさず分子標的治療薬の開発、応用に繋がる可能性がある。口腔扁平上皮癌において

Aurora を標的とした治療戦略を考える上で Aurora の分子背景 (発現パターン, 活性化機構) および病理学的意義の解明を目的としている。

3. 研究の方法

口腔扁平上皮癌細胞株を使用して、

1. 細胞周期における各 Aurora の遺伝子及びタンパク質発現量の変化を調べた。
2. GFP 融合の各 Aurora タンパク質安定発現扁平上皮癌細胞株の樹立を試みた。
3. 共焦点レーザー顕微鏡を駆使したタイムラプス顕微鏡観察も行い、各 Aurora の細胞内動態をリアルタイムに可視化した。
4. 口腔扁平上皮癌臨床症例の Aurora 免疫組織染色を行った。

4. 研究成果

1. 各 Aurora 発現状況をイムノブロット法にて解析したところ、
2. 扁平上皮癌細胞株 HSC2, 3, 4 の内、Aurora を最も安定的に発現していたのは HSC3 であった。この細胞株樹立によって蛍光顕微鏡下に経時的観察が可能となった。
3. および 4. 扁平上皮癌が浸潤・転移の段階で Aurora に依存度の高い悪性腫瘍であることを確認した。この事実から分子標的治療薬の開発、応用に繋がる可能性があると思われる。

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)

[雑誌論文] (計 7 件)

- 1) H. Tsukamoto, S. Kondo, Y. Mukudai, T. Nagumo, A. Yasuda, Y. Kurihara, H. Watanabe, T. Kamatani, A. Fujita, H. Katsuta, Y. Yoshihama, T. Shirota, S. Shintani. Evaluation of the anticancer activities of Na⁺/K⁺-ATPase inhibitor, sanguinarine in human oral squamous cell carcinoma cell lines. *Anticancer research*. 査読有 2011:31: 2841-2846
- 2) A. Yasuda, S. Kondo, T. Nagumo, H. Tsukamoto, Y. Mukudai, K. Umezawa, S. Shintani. Anti-tumor activity of dehydroxymethylepoxyquinomicin against human oral squamous cell carcinoma cell lines in vitro and in vivo. *Oral Oncology* 査読有 2011:47:334-339.
- 3) S. Kondo, S. Kubota, Y. Mukudai, T. Nishida,

Y. Yoshihama, T. Shirota, S. Shintani, M. Takigawa. Binding of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase to the *cis*-acting element of structure-anchored repression in *ccn2* mRNA. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 査読有 2011:405: 382-387.

- 4) Y. Mukudai, S. Kubota, T. Eguchi, K. Sumiyoshi, D. Janune, S. Kondo, S. Shintani, M. Takigawa. A coding RNA segment that enhances the ribosomal recruitment of chicken *ccn1* mRNA. *Journal of Cellular Biochemistry*. 査読有 2010: 111: 1607-18.
- 5) K. Kawata, S. Kubota, T. Eguchi, N. H. Moritani, T. Shimo, S. Kondo, T. Nishida, S. Minagi, M. Takigawa. Role of the low-density lipoprotein receptor-related protein-1 in regulation of chondrocyte differentiation. *Journal of Cellular Physiology*. 査読有 2010: 222: 138-48
- 6) T. Ohgawara, S. Kubota, H. Kawaki, S. Kondo, T. Eguchi, N. Kurio, E. Aoyama, A. Sasaki, M. Takigawa. Regulation of chondrocytic phenotype by micro RNA 18a: involvement of *Ccn2/Ctgf* as a major target gene. *FEBS letters*. 査読有 2009: 583: 1006-1010.
- 7) T. Nishida, S. Kondo, A. Maeda, S. Kubota, Lyons KM, M. Takigawa. *CCN2* family 2/connective tissue growth factor (*CCN2/CTGF*) regulates the expression of *Vegf* through *Hif-1* alpha expression in a chondrocytic cell line, HCS-2/8, under hypoxic condition. *Bone*. 査読有 2009: 44: 24-31.

[学会発表] (計 2 件)

- 1) 近藤誠二, 久保田聡, 椋代義樹, 西田崇, 吉濱泰斗, 代田達夫, 新谷 悟, 滝川正春: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase は *CCN2* mRNA 結合蛋白である. 第 4 回日本 *CCN* ファミリー研究会. 岡山, 2011 年 8 月 26・27 日
- 2) Seiji Kondo, Kazunaga Yazawa, Li chunnan, Yuji Kurihara, Sayaka Kurihara, Yasuto Yoshihama, Tatsuo Shirota, Satoru Shintani: Herbal product, h201 and h207 is a potential anticancer agent in oral squamous cell carcinoma cell lines. 第 70 回日本癌学会学術総会. 名古屋市, 2011 年 10 月 3-5 日

[その他]
ホームページ等
<http://www.omfs-showa.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 誠二 (KONDO SEIJI)
昭和大学・歯学部・准教授
研究者番号：10432634

(2) 研究分担者

浦野 健 (URANO TAKESHI)
島根大学・医学部・教授
研究者番号：70293701

関根 浄治 (SEKINE JOJI)
島根大学・医学部・教授
研究者番号：20236095

(3) 連携研究者

()

研究者番号：