

## 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 5月31日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22592241

研究課題名（和文） Notch シグナルを標的とした新規口腔扁平上皮癌治療に関する研究

研究課題名（英文） Notch signaling as a therapeutic target in oral squamous cell carcinoma

研究代表者

比地岡 浩志(HIJIOKA HIROSHI)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：70305150

研究成果の概要（和文）：本研究は口腔扁平上皮癌（以下、OSCC）における Notch シグナルの役割とその機序を解明し、新規分子標的治療の可能性を探るものである。OSCC において Notch シグナルが発現・活性化していることを確認し、Notch シグナルを阻害したところ、OSCC の増殖が抑制されることを見出した。また低酸素環境において Notch シグナルが活性化し、EMT（上皮間葉転換）を誘導された。これらの結果は Notch シグナルが OSCC に対する治療標的になりうることを示唆するものと思われた。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to investigate the significance of Notch signaling in oral squamous cell carcinoma(OSCC) and to explore the potential of new molecular target therapy for OSCC. We demonstrated that Notch signaling is activated in OSCC and inhibition of Notch pathway prevents OSCC growth. Further we showed hypoxia induced EMT in OSCC via activation of Notch signaling. These findings suggest that inhibition of Notch pathway may be a useful approach for the treatment of patients with OSCC.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：Notch シグナル、口腔扁平上皮癌、EMT、低酸素

## 1. 研究開始当初の背景

Notch シグナルは細胞の分化・増殖・移動・成熟などさまざまな生命現象に関与しており、とりわけ発生期における細胞分化運命に

大きくかかわっている。Notch は隣接細胞のリガンドに結合することにより活性化される膜貫通タンパク質で、情報伝達の受容体として働いている。哺乳類では Notch1～4、リ

ガンドは Jagged1,2, DLL1,3,4 のホモログが同定されている。Notch にリガンドが結合すると細胞膜の内側で  $\gamma$ -secretase により Notch が切断され、Notch 細胞質内ドメイン (Notch-IC) が核へ移行後、転写制御因子の RBPj $\kappa$  と結合し、多くの下流遺伝子の転写が活性化される。

近年、Notch シグナルの変化がさまざまな癌で観察されており、Notch レセプターの構成的活性化が悪性形質転換と強く関連していると考えられている。

## 2. 研究の目的

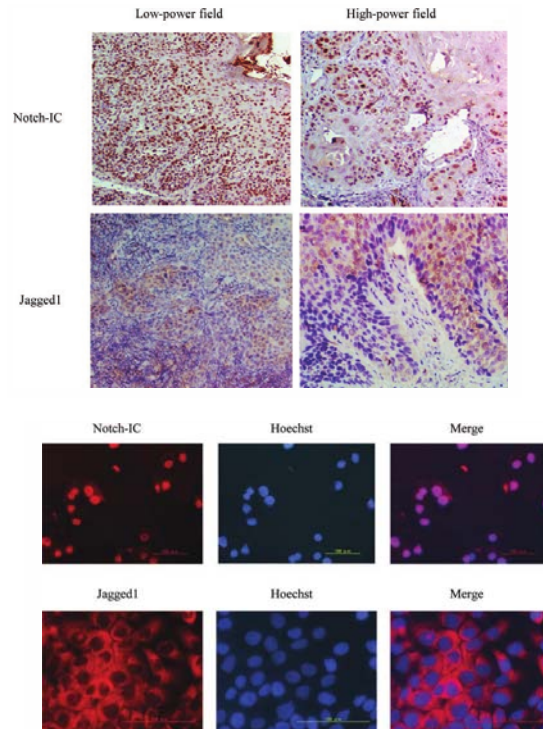
口腔癌、なかでもその8割以上を占める扁平上皮癌における Notch シグナルの作用についてはほとんど解明されておらず、本研究は口腔扁平上皮癌 (OSCC) における Notch シグナルの機序とその意義を明らかにし、新規分子標的治療法の確立を目指すものである。

## 3. 研究の方法

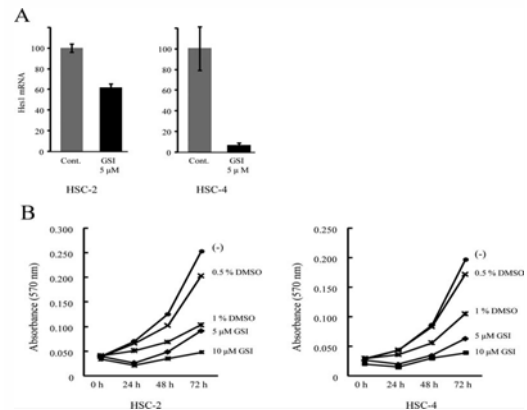
- 1) OSCC 細胞株および OSCC 患者組織を用いて、Notch シグナル関連分子の RNA および蛋白質発現について検討した。
- 2)  $\gamma$ -secretase inhibitor (GSI) を用いて OSCC 細胞株における Notch シグナルを阻害し、増殖に関する機能解析を行った。
- 3) 次に低酸素環境下における Notch シグナル分子、Snail および E-cadherin の発現を正常酸素環境下と比較検討した。
- 4) 低酸素環境下における OSCC 細胞の遊走能および浸潤能を正常酸素環境下と比較検討し、さらに GSI を用いて Notch シグナルを阻害し遊走および浸潤に関する機能解析を行った。

## 4. 研究成果

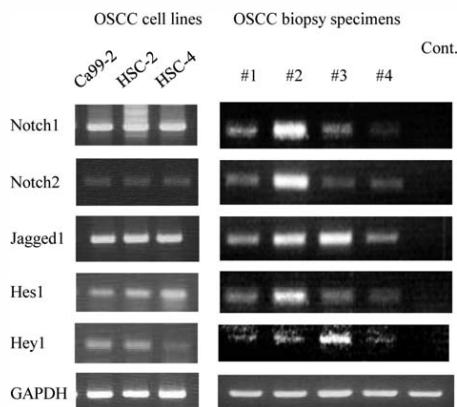
- 1) OSCC 細胞株および患者組織いずれにおいても Notch シグナル関連分子は RNA、蛋白質で発現していた。また Notch-IC は核に、Jagged1 は細胞膜に発現していた。



- 2) GSI によって Notch ターゲット分子 Hes1 の発現は低下し、Notch シグナルが阻害されていることが確認された。また Notch シグナルを阻害することによって、OSCC 細胞の増殖が抑制された。

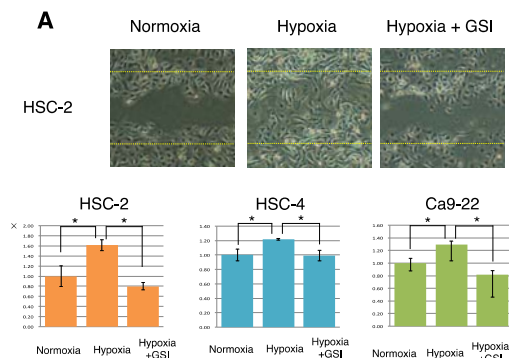


- 3) 低酸素環境下にて Notch シグナル関連遺伝子、snail および E-cadherin は強発現していた。



	Notch1	Notch2	Notch3	Notch4	Jagged1	Jagged2	Dll4	Hes1	Hey1	Snail
HSC-2	3.52	3.04	6.15	1.10	1.00	0.82	2.17	1.51	1.73	5.03
HSC-4	2.38	1.32	1.69	0.79	1.80	0.64	1.25	1.34	1.19	2.89
Ca9-22	0.78	2.45	1.54	2.98	1.77	2.51	2.23	3.39	1.98	2.01

- 4) 低酸素環境下で OSCC 細胞株の遊走能および浸潤能は亢進していたが、GSI によって Notch シグナルを阻害したところ遊走能、浸潤能とも低下した。



つまり口腔扁平上皮癌において Notch シグナルは発現・活性化しており、Notch シグナルを阻害することで増殖が抑制された。また低酸素環境下において Notch シグナルは強発現し、snail の発現増強および E-cadherin の発現低下を引き起こし、EMT を誘導していた。

以上の結果から、Notch シグナルは口腔扁平上皮癌の新たな治療標的になりうる事が示唆された。

#### 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 6 件)

1. Kume K, Haraguchi M, Hijioka H, Ishida T, Miyawaki A, Nakamura N, Ozawa M. The transcription factor Snail enhanced the degradation of E-cadherin and desmoglein 2 in oral squamous cell carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 18:430:889-894. 2013 査読有, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.12.060>
2. Kibe T, Fuchigami T, Kishida M, Iijima M, Ishihata K, Hijioka H, Miyawaki A, Semba I, Nakamura N, Kiyono T, Kishida S, A novel ameloblastoma cell line (AM-3) secretes MMP-9 in response to Wnt-3a and induces osteoclastogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 115(6):780-8, 2013 査読有 doi: 10.1016/j.oooo.2013.03.005.
3. Miyawaki A, Hijioka H, Ikeda R., Ishida T., Nozoe E., Nakamura N.

Analysis of the outcome of concurrent neoadjuvant chemo radiotherapy with S-1 compared to super-selective intra-arterial infusion for oral squamous cell carcinoma. *Oncol. Letter*;3:995-1001, 2012 査読有, Doi:10.3892/ol.2012.606

4. Hijioka H, Setoguchi T, Miyawaki A, Gao H, Ishida T, Komiya S, and Nakamura N. Upregulation of Notch pathway molecules in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.*36: 817-822 2010 査読有, Doi: 10.3892/ijo\_00000558
5. Miyawaki A., Ikeda R., Hijioka H., Ishida T., Nakamura N. Relationship between SUV of PET and Hypoxic environment of Oral squamous cell carcinoma. *Oncology Report*, 23: 1205-1212, 2010 査読有, Doi: 10.3892/or\_00000751
6. Hirotsu M., Setoguchi T., Sasaki H. Matsunoshita Y., Gao H., Nagao H., Kunigou O., Komiya S. Smoothed as a new therapeutic target for human osteosarcoma. *Molecular Cancer.*9: 5 2010 査読有

[学会発表] (計 5 件)

1. 比地岡浩志, 石田喬之, 久米健一, 吉村卓也, 西原一秀, 野添悦郎, 中村典史, 当科における口腔扁平上皮癌症例に対する取り組みと治療成績, 第 31 回日本口腔腫瘍学会学術集会, 2013 年 1 月 24 日 東京
2. 久米健一, 原口みさ子, 比地岡浩志, 宮脇昭彦, 石田喬之, 中村典史, 小澤政之, 口腔扁平上皮癌において転写因子 Snail は E-cadherin と desmoglein 2 の分解を亢進する, 第 85 回日本生化学会大会, 2012 年 5 月 17 日 福岡
3. Hijioka H, Ishida T, Kume K, Yoshimura T, Miyawaki A, Nakamura N, Notch signaling induced EMT in oral squamous cell carcinoma under hypoxic environment, 10th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery, Nov. 16, 2012 Bali, Indonesia
4. 石田喬之, 比地岡浩志, 宮脇昭彦, 岐部俊郎, 久米健一, 中村典史, 低酸素環境下での口腔扁平上皮癌細胞の上皮間葉移行における Notch シグナルの意義, 第 56 回日本口腔外科学会学術集会, 2011 年 10 月 21 日 大阪
5. Kibe T, Kishida S, Hijioka H, Miyawaki A, Nakamura N, The role of Wnt signaling pathway in growth

characteristics of Ameloblastoma cells, 11th Annual Meeting of Indonesian Association of Oral and Maxillofacial Surgery, Sep. 21, 2011  
Batam, Indonesia

6. 研究組織

(1) 研究代表者

比地岡 浩志 (HIJIOKA HIROSHI)  
鹿児島大学・医学部歯学部附属病院・講師  
研究者番号：70305150

(2) 研究分担者

瀬戸口 啓夫 (SETOGUCHI TAKAO)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・その他  
研究者番号：40423727

宮脇昭彦 (MIYAWAKI AKIHIKO)  
産業医科大学・附属病院・講師  
研究者番号：40200216

石田喬之 (ISHIDA TAKAYUKI)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・助教  
研究者番号：20404501

小宮節郎 (KOMIYA SETSURO)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授  
研究者番号：30178371

中村典史 (NAKAMURA NORIFUMI)  
鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授  
研究者番号：60217875