

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 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791579

研究課題名（和文） 上咽頭癌における細胞接着シグナリング機構の解明

研究課題名（英文） Research of signaling mechanism in nasopharyngeal cancer

研究代表者

遠藤 一平 (ENDO KAZUHIRA)

金沢大学・大学病院・助教

研究者番号：30547154

研究成果の概要（和文）：

EBウイルスの癌蛋白であるLMP1はそのような多くの分子を誘導し上咽頭癌の高転移性に寄与していると考えられているが、その詳しいメカニズムは不明である。近年、核内タンパクであるSATB1がDNAの遺伝子発現に深く関与し、多くの遺伝子発現を制御することが報告された。我々はLMP1とSATB1の上咽頭培養細胞および上咽頭癌組織標本での相互作用を検討した。上咽頭培養細胞においてLMP1を形質導入するとSATB1の誘導が確認された。上咽頭癌組織標本において免疫組織学的検討から、LMP1の発現とSATB1の発現も有意に相関していた。以上から上咽頭癌においてLMP1はSATB1を通して細胞増殖、アポトーシスを制御していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

A global regulator of chromatin remodelling and gene expression, special AT-rich-binding protein 1 (SATB1) has been implicated in promotion of growth and metastasis of a number of cancers. Here, we demonstrate that the principal oncogene of Epstein-Barr virus (EBV), latent membrane protein 1 (LMP1) upregulates SATB1 RNA and protein expression in human nasopharyngeal cell lines. We show that SATB1 protein levels are elevated in tissue samples from patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC). Taken together, our results suggest that SATB1 functions as a prometastatic effector of LMP1 signalling in EBV-positive NPC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：頭頸部癌

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：上咽頭癌、EB ウイルス

1. 研究開始当初の背景

癌の悪性化、転移に伴う細胞内変化において、癌細胞には細胞増殖・浸潤能亢進、アポトーシス抑制、血管新生といった性質を獲得する必要がある。このような性質獲得のメカニズムは未だ不明な部分が多い。上咽頭癌には Epstein-Barr ウイルス (EBV) の関与が指摘されている特異な頭頸部腫瘍の一つです。

EBV の潜伏感染形式には I, II, III 型があり上咽頭癌では EBNA1, LMP1, LMP2a, 2b, EBERs の発現を示す II 型感染形式との関連が強いとされている。II 型潜伏感染での EBV 発現蛋白のなかでもとりわけ潜在型膜蛋白 1 (LMP1) は、がん遺伝子として広く研究されてきている。特に上咽頭癌早期病変では 100% に EBV がん遺伝子である LMP1 の発現が認められる。(*N Engl J Med* 1995)。LMP1 は単独でラット培養線維芽細胞株に腫瘍原性形質転換を起こすことができ、またヒト上皮細胞の分化を抑制すること、B リンパ球においてアポトーシスを抑制し細胞を不死化することが知られている。(*Cell*, 1991)

上咽頭癌は頭頸部腫瘍のなかでもとりわけ早期から頸部リンパ節などに転移を引き起こす予後不良の疾患である。さらに解剖学的特性から手術療法が困難でこれまで放射線および化学療法が標準的な治療法である。近年、マスター遺伝子調節因子として SATB1 は浸潤型乳癌で高度の発現し予後と関連していることが報告された (*Nature* 2008)。さらに SATB1 は 1000 以上もの遺伝子の発現を制御し乳癌において重要な働きをしていることが明らかになった。最近、我々は LMP1 がクロマチン形成因子である SATB1 の発現増

強していることを確認した。

2. 研究の目的

LMP1 は多くの転移関連因子を誘導する報告があるが、その相互関係、また実際にかん転移の鍵をにぎる分子の特定はできていない。成人の 90% 以上に潜伏感染している EBV の LMP1 自体の発現を抑制することは難しいがその下流にある分子をターゲットに転移抑制の可能性が考えられる。EBV 関連悪性腫瘍には上咽頭癌の他にもバーキットリンパ腫、Hodgkin リンパ腫、胃癌、乳癌などが報告されており、本研究で得られた成果はこのような悪性腫瘍の転移抑制メカニズムの解明、分子標的薬剤の開発などに応用されることが期待される。今回、我々は上咽頭癌における、LMP1 及び SATB1 の悪性化への役割等について検討した。

3. 研究の方法

仮説：EBV-LMP1 がマスター遺伝子調節因子 SATB1 を誘導制御することで、エピゲノム異常が起こり多様な転移関連因子の誘導を起こす。LMP1/SATB1/転移関連因子の一連のシグナル機構が上咽頭癌における比較的高頻度の癌転移プロセスの鍵を握っている。

EBV 感染した II 型細胞である KH1, KH2 細胞では、その親細胞である HeLa 細胞に比べて SATB1 の発現増強するかを検証する。さらに上咽頭の上皮細胞である NP69 細胞に LMP1 を形質導入すると SATB1 の発現増強を蛋白レベル、mRNA レベルで確認する。LMP1 によって

誘導された SATB1 はゲノムオーガナイザーとして多数の遺伝子発現を調節することが予想されるが、同じく LMP1 自体もこれまで多数の転移関連遺伝子を誘導することが報告されている。LMP1 と SATB1 の2つによって誘導される分子の相互関係（相加的もしくは競合的なものか）を調べる。この過程では LMP1 を発現している上咽頭培養細胞において SATB1-shRNA (Dr. Kohwi-Shigematu より入手済み) を用いて SATB1 を特異的にノックダウンした細胞を用いるつもりである。実際の上咽頭癌患者の生検材料は金沢大学医学部附属病院で診断治療したパラフィンブロックがあり病歴も含めて調査済みである。これら生検組織を用いて LMP1 と SATB1 の免疫組織染色を施行し両者の相関、及び臨床データとの関連を調べる予定である。

4. 研究成果

EBV LMP1による細胞増殖能亢進及びアポトーシス制御機能

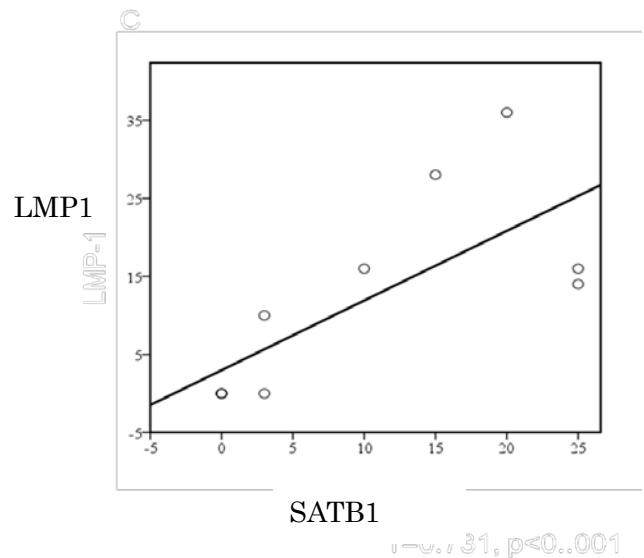
背景：がんの転移は多くの転移関連因子が複雑に絡み合った現象である。EBウイルスの癌蛋白であるLMP1はそのような多くの分子を誘導し上咽頭癌の高転移性に寄与していると考えられているが、その詳しいメカニズムは不明である。近年、核内タンパクであるSATB1がDNAの遺伝子発現に深く関与し、多くの遺伝子発現を制御することで乳癌の悪性化に寄与していることが報告された。我々はLMP1とSATB1の上咽頭培養細胞および上咽頭癌組織標本での相互作用を検討した。

結論：上咽頭培養細胞においてLMP1を形質導入するとSATB1の誘導が確認された。これにはLMP1の細胞内シグナル活性化領域である

CTAR1及びCTAR2の両者が必要であった。またLMP1発現細胞は親細胞に比して細胞増殖能が亢進し、また無血清下においてアポトーシスに抵抗性を示した。しかしSATB1を抑制するとこれらの表現型は減弱した。上咽頭癌組織標本において免疫組織学的検討から、LMP1の発現とSATB1の発現も有意に相関していた。以上から上咽頭癌においてLMP1はSATB1を通して細胞増殖、アポトーシスを制御していることが示唆された。LMP1は上咽頭癌の悪性化に寄与していることが報告されており、本研究成果がその解明の一つになりえた。

Figure:

上咽頭癌組織におけるSATB1とLMP1の免疫組織化学検討 両者は相関した。



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1件)

Endo K, Shackelford J, Aga M, et.al. Up-regulation of SATB1 by EBV LMP1 in human nasopharyngeal cells and nasopharyngeal cancer. J Gen Virol 2013 ;94(Pt 507-13) 査読あり

DOI: 10.1099/vir.0.046243-0

〔学会発表〕（計1件）

遠藤一平、吉崎智一、「EBV LMP1による細胞増殖能亢進およびアポトーシス制御機能」,
第113回日本耳鼻咽喉科学会, 2012年05月09日, 朱鷺メッセ（新潟県）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 一平 (ENDO KAZUHIRA)
金沢大学・大学病院・助教
研究者番号：30547154

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし