

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 25 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462685

研究課題名(和文) SCC抗原のサブタイプ解析-より臨床的な頭頸部癌腫瘍マーカーの確立を目指して-

研究課題名(英文) Analysis of the biological role of SCCA2 protein in head and neck cancer

研究代表者

安松 隆治 (Yasumatsu, Ryuji)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：00444787

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：SCCA2高発現株を作成し特性について検討した。増殖能、浸潤能についてコントロール株との間に差はなかった。またヌードマウスに腫瘍細胞を移植し腫瘍体積の変化を解析したが、コントロール群との間に差は認められなかった。しかしながら抗悪性腫瘍薬を腫瘍に投与したところコントロール株においてのみ増殖抑制が認められた。SCCA2高発現株移植マウスの血液を解析したところ、ヒトSCCA2が上昇しており血中SCCA2値は腫瘍由来と考えられた。最後に凍結組織中のSCCA1,2タンパク濃度を測定した結果、癌組織ではSCCA2値が高い傾向にあった。頭頸部癌症例における血液データについては今後継続して検討予定である。

研究成果の概要(英文)：Squamous cell carcinoma antigen (SCCA) belongs to the ovalbumin-serpin family and is a known tumor marker. Recent studies demonstrated that the expression of SCCA2 was increasing in HNSCC. However its physiologic function in HNSCC is unknown. The aim of this study was to evaluate the biological role of SCCA2 in HNSCC, and the relationship between SCCA2 protein level and tumor volume. SCCA2 expression did not alter the in vitro growth rate of established HNSCC cells, the in vitro invasion in matrigel assays, the in vivo tumor growth and the in vivo invasion in nude mice. However, antitumor agent could only inhibit tumor growth in low SCCA2 expression tumor group in vivo. Serum SCCA2 protein level correlated with tumor volume. In addition, the SCCA2/SCCA1 ratio of protein level in the carcinoma tissue was higher than in the normal tissue. Further examination is necessary to conclude that SCCA2 is reliable tumor marker in HNSCC.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：頭頸部癌 SCC抗原 SCCA1 SCCA2 腫瘍マーカー

1. 研究開始当初の背景

感度、特異度の高い腫瘍マーカーを確立することは悪性腫瘍の診断、治療後の経過観察において極めて有用である。臨床の場で広く用いられている前立腺癌に対する腫瘍マーカーPSAは有名であるが、頭頸部癌においてはSCC抗原などが用いられているものの、有用性として満足のいくものとは言い難く、あくまで補助的に測定されているに過ぎないのが現状である。

SCC抗原は、1977年に加藤らによって子宮頸部癌転移巣から発見された蛋白である。進行扁平上皮癌症例でこの血清値が上昇することから、頭頸部癌も含めた扁平上皮癌の腫瘍マーカーとして臨床の場において用いられ、腫瘍細胞から特異的に放出され癌細胞増殖に促進的に働く蛋白と考えられてきた。しかしながら、近年、喘息や皮膚炎、耳鼻咽喉科領域では鼻腔乳頭腫でも著明に上昇することが報告されている。また分子生物学的に遺伝子座が同定され、臨床的に測定されているSCC抗原は、SCCA1, SCCA2という相同性は高いものの分子生物学的には全く異なる2種類の蛋白から構成されているということが判明した。さらにこれらは *serine protease inhibitor family* (略: *serpin*) に属する生物学的機能を有する蛋白であることが分かってきた。

これまで我々はSCC抗原が癌のみならず良性疾患でも上昇することから、腫瘍マーカーとしての有用性を疑問視し、主にSCCA1蛋白に着目した上で、その細胞生物学的役割について解析を重ねてきた。その結果、

1. SCCA1は癌細胞のみならずTリンパ球にも発現しており、何らかの腫瘍免疫に関

わっている可能性がある (*Cancer Lett.* 2001)

2. 良性腫瘍の鼻腔乳頭腫ではSCCA1発現が高く、血清SCC抗原値も高いのに対して、悪性転化を来した扁平上皮癌ではいずれも低下する (*Cancer.* 2002, *Head Neck.* 2005)
3. SCCA1発現の低い頭頸部癌細胞にSCCA1遺伝子を導入し、SCCA1高発現株を樹立すると、癌細胞の浸潤能が低下する (*Head Neck.* 2006)

ということ報告してきた。すなわち、

1. 鼻腔乳頭腫をはじめとする良性疾患では、血清SCC抗原値が上昇していてもそれはSCCA1蛋白の過剰発現によるものであり、SCCA2の関与は乏しい。
2. SCCA1蛋白自体の細胞生物学的機能として癌細胞に対しては抑制的に働くのではないか

という一定の結論を得た。

2. 研究の目的

一方、近年、臨床サンプルを用いた他施設の研究では、SCCA2mRNAの上昇している頭頸部癌症例では予後不良であるとする結果が報告されており、頭頸部扁平上皮癌において腫瘍増殖に促進的役割を果たしている可能性がある。従って今研究では、以下の仮説のもとにSCCA2蛋白の機能解析を中心に検証を行い、また最終的には臨床の場で活用可能な有用性の高い腫瘍マーカー確立を目指したいと考えている。

仮説：

1. SCCA2 蛋白が頭頸部癌細胞において過剰発現し、癌の増殖において促進的因子として働いているのではないか。
2. 頭頸部癌において SCCA2 発現を抑制すれば癌細胞の増殖を制御できるのではないか。
3. 臨床において測定されている血清 SCC 抗原は SCCA1, SCCA2 をあわせた値であるため、SCCA2 のみを単独で測定できれば、頭頸部扁平上皮癌の腫瘍マーカーとして極めて有用なものになるのではないか。

3 . 研究の方法

1. 頭頸部癌細胞の遺伝子を組み換え、SCCA2 高発現株を作成する。細胞を用いて in vitro で SCCA2 の癌細胞における役割 (増殖能、浸潤能への影響) について検討する。
2. SCCA2 高発現細胞をヌードマウスに移植し、in vivo での SCCA2 蛋白の癌細胞に対する増殖能、浸潤能への影響を解析する。
3. SCCA2 高発現細胞移植マウスの血清 SCCA1, SCCA2 値を測定し、腫瘍の進展度と血清値との相関について解析する。
臨床研究として正常ボランティア、頭頸部癌症例の血清 SCCA1, SCCA2 値を測定し、SCCA2 が感度、特異度ともに優れた腫瘍マーカーとして臨床応用できないか検討する。

4 . 研究成果

4 種の頭頸部癌細胞の遺伝子を組み換え、SCCA2 発現レベルを RT-PCR 法にて確認、SCCA2 高発現株を作成した。その細胞を用いて in

vitro で SCCA2 の癌細胞における役割 (増殖能、浸潤能への影響) について検討した。in vitro における増殖能については SCCA2 高発現株、コントロール株、野生株の間に有意な差は認められなかった。また、matrigel を用いた浸潤能解析についても SCCA2 高発現株とコントロール株に間に明らかな差は認められなかった。続いて in vivo における解析としてヌードマウスに腫瘍細胞を移植し腫瘍の体積の変化を確認したが、コントロール株との間に差は認められなかった。一方で抗悪性腫瘍薬である 5-FU を腫瘍に局所注入したところコントロール株においてのみ増殖の抑制が認められた。SCCA2 高発現株を移植したマウス血液を解析したところ、ヒト SCCA2 濃度が上昇していたことから血液中の SCCA2 値は腫瘍由来のものを測定していることが確認できた。凍結組織からタンパクを抽出し、SCCA1, 2 タンパク濃度を測定したところ、癌組織では SCCA2 値が高い傾向にあることが確認できた。

以上のことから

1. SCCA2 高発現頭頸部癌細胞は抗悪性腫瘍薬に対して耐性である。
2. 頭頸部癌組織では主に SCCA1 に比べて SCCA2 の発現レベルが増加している。
3. 血清 SCCA2 濃度は主に腫瘍細胞に起因している可能性が高い。

ということが判明した。今研究期間においては頭頸部癌症例における血液データを用いた詳細な検討について行えておらず、今後継続していく予定である。

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 14 件)

1. Nakano T., Yamamoto H., Nakashima T.,

- Nishijima T., Satoh M., Hatanaka Y., Shiratsuchi H., Yasumatsu R., Toh S., Komune S. & Oda Y. Molecular subclassification determined by human papillomavirus and epidermal growth factor receptor status is associated with the prognosis of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Hum Pathol* 50, 51-61 (2016)
2. Nakashima T., Yasumatsu R., Toh S., Hashimoto K., Shinoto M., Nakamura K. & Komune S. Is there a role of adjuvant treatment for salivary duct carcinoma? *J Laryngol Otol* 129(3), S98-101 (2015)
 3. Yasumatsu R., Nakashima T., Yamauchi M., Toh S. & Komune S. Extrapulmonary small cell carcinoma in head and neck. *J Laryngol Otol* 129(3), S83-85 (2015)
 4. Yasumatsu R., Nakashima T. & Komune S. Squamous cell carcinoma of the oropharynx: single-institution outcome analysis of patients treated with concurrent chemoradiotherapy. *J Laryngol Otol* 129(3), S77-82 (2015)
 5. Yamauchi M. *, Nakano T., Nakashima T., Yasumatsu R., Hashimoto K., Toh S., Shiratsuchi H., Oda Y. & Komune S. Interferon inducible IFI16 expression in p16 positive squamous cell carcinoma of the oropharynx. *ISRN Otolaryngol*, 263271 (2013)
 6. Yasumatsu R., Nakashima T., Toh S., Taura M. & Komune S. Salvage of recurrent hypopharyngeal carcinoma after primary curative treatment. *Acta Otolaryngol* 133, 1110-6 (2013)
 7. 安松隆治, 中島寅彦, 瓜生英興, 古後龍之介, 小宗静男. 中咽頭前壁癌症例の臨床的検討. *頭頸部外科* 25(2), 197-201, 2015.
 8. 安松隆治, 中島寅彦, 瓜生英興, 古後龍之介, 小宗静男. 若年者頭頸部癌症例の臨床的検討. *頭頸部外科* 25(2), 191-195, 2015.
 9. 加藤明子, 安松隆治, 小池健輔, 藤賢史, 中島寅彦, 中村和正, 小宗静男. 上咽頭癌症例の臨床的検討. *耳鼻* 61, 80-84, 2015.
 10. 田浦政彦, 安松隆治, 藤賢史, 中島寅彦, 小宗静男. 原発不明頸部リンパ節転移癌症例の検討. *耳鼻* 60, 123-128, 2014.
 11. 西山和郎, 安松隆治, 橋本和樹, 田浦政彦, 藤賢史, 中島寅彦, 小宗静男. 原発性副甲状腺機能亢進症症例の臨床的検討. *耳鼻* 60, 55-59, 2014.
 12. 橋本和樹, 中島寅彦, 藤賢史, 安松隆治, 小宗静男. 精神疾患を有する頭頸部癌症例の検討. *頭頸部外科* 24, 195-199, 2014.
 13. 田浦政彦, 安松隆治, 藤賢史, 山内盛泰, 中島寅彦, 小宗静男. 頭頸部腺様嚢胞癌症例の臨床的検討. *頭頸部外科* 24(1), 75-81, 2014.
 14. 安松隆治, 佐藤方宜, 澤津橋基広, 藤賢史, 中島寅彦. 悪性腫瘍を合併した鼻・副鼻腔乳頭腫症例の臨床的検討. *耳鼻* 59(5), 189-195, 2013.
- [学会発表](計9件)
1. 若年者頭頸部癌症例の臨床的検討
安松隆治、古後龍之介、加藤明子、瓜生英興、中島寅彦、小宗静男
大阪市(第25回日本頭頸部外科学会)
 2. Squamous cell carcinoma of the oropharynx: Single-institution outcome analysis of patients treated with concurrent chemoradiotherapy
Yasumatsu R, Nakashima T, Uryu H, Kogo R, Komune S
兵庫県神戸市(第39回日本頭頸部癌学会)
 3. 原発性副甲状腺機能亢進症症例の臨床的検討
安松隆治、西山和郎、橋本和樹、藤賢史、中島寅彦、小宗静男.
香川県高松市(第24回日本頭頸部外科学会)
 4. 化学放射線治療後に再発を来した中咽頭癌症例の検討
安松隆治、中島寅彦、藤賢史、小宗静男
福岡県福岡市(第115回日本耳鼻咽喉科学会総会)
 5. 中咽頭前壁癌症例の臨床的検討
安松隆治、藤賢史、中島寅彦、小宗静男
東京(第38回日本頭頸部癌学会)
 6. Salvage of recurrent oropharyngeal carcinoma after failure of concurrent chemoradiotherapy

Yasumatsu R, Nakashima T, Toh S, Komune S.

New York, USA (5th world congress of IFHNOS & annual meeting of the AHNS)

7. Clinical analysis of extracranial head and neck schwannomas

Yasumatsu R, Nakashima T, Segawa Y, Komune S.

Seoul, Korea (IFOS 2013)

8. 当科における下咽頭癌再発症例の検討
安松隆治、中島寅彦、藤賢史、田浦政彦、小宗静男.

東京（第37回日本頭頸部癌学会）

9. Salvage of recurrent hypopharyngeal carcinoma after primary curative treatment

Yasumatsu R, Nakashima T, Toh S, Komune S.

Vancouver, Canada (AHNS 2013)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安松 隆治 (YASUMATSU, Ryuji)
九州大学・大学病院・講師
研究者番号：00444787

(2) 研究分担者

中島 寅彦 (NAKASHIMA, Torahiko)
九州大学・医学研究院・准教授
研究者番号：00284505