

課題番号 47

CD271 陽性細胞を治療標的とした 新規頭頸部癌治療法の検討

(3-1) 研究成果

[1] 組織

代表者：望月 麻衣
(東北大学大学院医学系研究科)
対応者：本橋 ほづみ
(東北大学加齢医学研究科)
分担者：玉井 恵一
(宮城県立がんセンター研究所)
小鎌 直子
(宮城県立がんセンター研究所)
中村 真央
(宮城県立がんセンター研究所)

研究費：物件費 45万円 旅費 0円

[2] 研究経過

研究背景・目的

癌は高齢化に伴い罹患率の増加が進んでいる。癌種によって適切な治療法は様々であるが、その中で頭頸部癌は、放射線照射や化学療法に対する効果は限定的であり、外科的切除不能例は予後不良である。近年、癌特異的に高発現している分子をターゲットにした分子標的薬が開発され、肺癌や乳癌において著効を示している。しかし、頭頸部癌においてこのような標的分子は未だ同定されていない。

本研究では頭頸部癌を研究対象として、①マウスへの造腫瘍能を指標として新規の表面マーカーを見出した上で、②新規マーカー分子の機能解析を行い、治療標的を決定することを目的とした。材料には、頭頸部患者由来腫瘍から独自に樹立した担癌マウスライン、及び、同ラインから樹立した頭頸部がん細胞株を用いた。

研究打ち合わせ等の開催状況

研究代表者・対応者は加齢医学研究所での研究方針打ち合わせを実施した。さらに、随時メールを用いて論文内容・実験方針の討議を行い、研究を推進した。また、本研究に必要な試薬類の提供を受けた。

[3] 成果

1. 頭頸部癌新規マーカーCD271の同定

頭頸部癌における標的分子探索のために、頭頸部癌担癌マウスの腫瘍を用いて表面分子のスクリーニングを行った。具体的には、腫瘍をコラゲナーゼ/ディスペーゼを用いて単細胞まで分離し、他癌種で報告のある腫瘍表面マーカー (CD44, CD133, CD90, EpCAM, CD271) の発現量を指標に FACS Aria で分画し、免疫不全マウス NOG マウスの皮下に移植して腫瘍形成能を評価した。この結果、CD271 高発現細胞のみが高い造腫瘍能を示すことが判明した。さらに、CD271 高発現の患者予後に着目したところ、低発現の患者に比べて有意に予後不良であることが判明した。

これらの結果から、CD271 は頭頸部癌の悪性度を決定すると考えられたので、次に CD271 は頭頸部癌において機能性を有するかを検討した。

2. 頭頸部癌細胞における CD271 機能の解析

頭頸部癌における CD271 の機能性を検討するために、siRNA を用いて CD271 特異的に頭頸部癌細胞株をノックダウンした。CD271 ノックダウン細胞について、*in vitro* 細胞増殖試験・*in vivo* でのマウスへの造腫瘍能試験を行った。その結果、増殖・造腫瘍能の著しい低下がみられた。さらに、ノックダウン細胞について CD271 下流の増殖シグナルを解析したところ、一部シグナルの顕著な活性低下が認められた。これらの結果から、CD271 は頭頸部癌における主要な増殖制御因子であることが示唆され、治療標的としての有望性が示された。

(当研究成果は、現在投稿中である)

<今後の展望>

頭頸部癌における CD271 を標的とした治療法の開発には、CD271 のみならずその下流シグナル経路を含めた複数のアプローチが有用である。今後は以下のように研究を進める予定

である。

CD271 は細胞膜貫通型の神経成長因子受容体である。CD271 の機能には細胞内ドメインが重要であると考え、野生型 CD271 (CD271WT)・CD271 細胞内ドメイン欠損型 (CD271 Δ C)・CD271 細胞内ドメインの部分欠損型 (CD271 Δ JX, Δ DD)・膜貫通ドメイン配列の変異型 (Fas-TM) (図1) を設計し、細胞に導入する。野生型及び変異型 CD271 発現細胞については、①*in vitro* 細胞増殖試験、②*in vivo* 造腫瘍能試験、③細胞周期解析、④下流増殖シグナルの解析、⑤マイクロアレイを用いた発現変動遺伝子の解析、⑥免疫沈降及び TOF-MAS を用いた相互作用分子の同定を予定している。

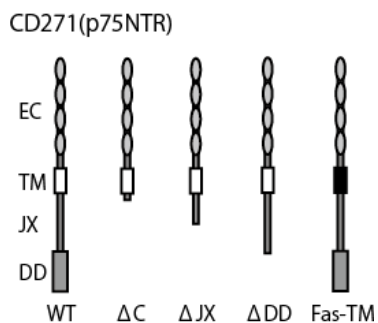


図1 CD271 変異型

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、申請者が積極的に他研究室との討論・機器利用を行うきっかけとなり、研究交流の展開に大きく寄与した。頭頸部癌の悪性度規定因子 CD271 をはじめて見だし、その機能を解析したことは、標的薬の開発において重要な手がかりとなると考えられた。

[4] 成果資料

学会発表

(1) 望月麻衣、今井隆之、松浦一登、小鎌直子、玉井恵一、本橋ほづみ、菅村和夫、田中伸幸：頭頸部がん幹細胞における CD271 の役割の解明
口演、日本生化学会東北支部第 81 回例会・シンポジウム, 2015.5

(2) Mai Mochizuki, Takayuki Imai, Keiichi Tamai, Hozumi Motohashi, Nobuyuki Tanaka: CD271 marks cancer initiating cells in hypopharyngeal carcinoma with enhanced proliferative potential

口演、第 74 回日本癌学会学術総会, 2015.10

(3) 望月麻衣、今井隆之、松浦一登、小鎌直子、

玉井恵一、本橋ほづみ、菅村和夫、田中伸幸：頭頸部癌における CD271 の機能性

ポスター、第 38 回日本分子生物学会, 2015.12

(4) 望月麻衣、玉井恵一、今井隆之、中村真央、小鎌直子、本橋ほづみ、菅村和夫：下咽頭癌において CD271 は増殖能・浸潤能を制御するポスター、平成 27 年度「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」公開シンポジウム, 2016.1

発表論文

Yamaguchi K, Takanashi T, Nasu K, Tamai K, Mochizuki M, Satoh I, Ine S, Sasaki O, Satoh K, Tanaka N, Harigae H, Sugamura K.

Xenotransplantation elicits salient tumorigenicity of adult T-cell leukemia-derived cells via aberrant AKT activation.

Cancer Sci., in press.