

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11621

研究課題名(和文) TANGOによる口腔癌の転移前ニッチ形成機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the pre-metastasis niche formation mechanism of oral cancer by TANGO

研究代表者

笹平 智則 (Sasahira, Tomoonori)

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：90405374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：TANGOは口腔癌において腫瘍促進性に作用する。申請者は、口腔癌におけるTANGOの機能やシグナル経路について臨床検体、口腔癌細胞株等を用いた詳細な検討を行ってきた。その結果、TANGOに関連した新たな分子として、NCAPH, mast cell chymase, SRPX2, PXDN, MUC20などを新たに同定した、これらのうちDHRS9は口腔癌において腫瘍抑制性に作用するが、それ以外はいずれも腫瘍促進的に作用する。また、それらのうちのいくつかは分泌タンパクとして腫瘍中のみならず血清中でも検出されることが明らかとなった。口腔癌における分子マーカーとなり得る可能性が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新たに見いだされた因子の多くは口腔癌において腫瘍促進的に作用することより、それらを標的とした分子治療の可能性が期待される。また血中において検出可能な分泌タンパクもいくつか含まれていたことより、検査マーカーとしての応用も考えられる。特に唾液中からも検出されることが明らかになれば、簡便かつ低侵襲な腫瘍マーカー検査が可能になり、ひいては口腔癌の早期発見・治療による予後向上に寄与できるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：TANGO acts tumor-promotingly in oral cancer. We have conducted detailed studies on the functions and signal pathways of TANGO in oral cancer using clinical specimen and oral cancer cell line. As a result, NCAPH, mast cell chymase, SRPX2, PXDN, MUC20, etc. were newly identified as new molecules related to TANGO. Among these, DHRS9 acts on tumor inhibitory properties in oral cancer, but other molecules act as oncogene in oral cancer. It was also revealed that some of them are detected as secretory proteins not only in tumors but also in serum. It is expected that it may be a molecular marker in oral cancer

研究分野：口腔病理学

キーワード：口腔癌 TANGO

1. 研究開始当初の背景

転移能を有するがん細胞の一部は、転移が成立する前から遠隔臓器に転移を引き起こしやすくする「転移前ニッチ」を形成することが明らかとなっている。従って、転移能を持ち始めたがん細胞の機能を抑え込んでしまうことは、転移を抑制する上で極めて効果的であると考えられる。

申請者らは口腔癌を含む扁平上皮癌における新たな転移促進因子として transport and Golgi organization protein 1 (TANGO) を同定した。TANGO は多くのがんでは発現抑制されているのに対し、口腔癌ではがん化の早期の段階から高発現している。TANGO は口腔癌特異的に腫瘍促進性の作用を有する可能性がある。

2. 研究の目的

口腔癌における TANGO および関連シグナルの更なる機能的な解析により、TANGO による転移前ニッチ形成機構を明らかにすることを目的とする。本研究の究極の目標は TANGO およびその関連シグナルを臨床現場に応用することであるため、診断マーカー、治療標的としての有用性をも併せて検討したいと考えている。

3. 研究の方法

本研究の概略は下記の通りである。

- ・ TANGO の発現調節機構や関連シグナルを明らかにすることで、詳細な分子機能を解明する。
- ・ 臨床検体を用いて TANGO および関連シグナルの発現を検討することで腫瘍マーカーとしての有用性を検討する。
- ・ 動物実験により口腔癌の新たな分子標的診断・治療の可能性を模索する。

4. 研究成果

(1) NIPAL1 について

マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析により、口腔扁平上皮癌 (OSCC) において TANGO に関連して発現上昇する遺伝子の一つとして *NIPA Like Domain Containing 1* (*NIPAL1*) を見いだした。NIPAL1 は痛風に関連した報告はあるものの、ヒトの悪性腫瘍におけるその発現と機能についてはほとんど知られていない。

192 例の OSCC における NIPAL1 の発現を調べたところ 39 例 (20.3%) が NIPAL1 を発現しており (図 1)、その発現は浸潤の深さ ($P = 0.0062$) ならびに無病生存率の低下 ($P < 0.0001$) と有意に関連していた。さらに、多変量解析により、NIPAL1 の発現は OSCC における独立した予測因子であった ($P < 0.0001$)。OSCC 細胞株を用いた *in vitro* の検討では、NIPAL1 は血管・リンパ管内皮細胞の遊走と増殖、ならびに OSCC 細胞と内皮細胞の接着を調節することが明らかとなった。

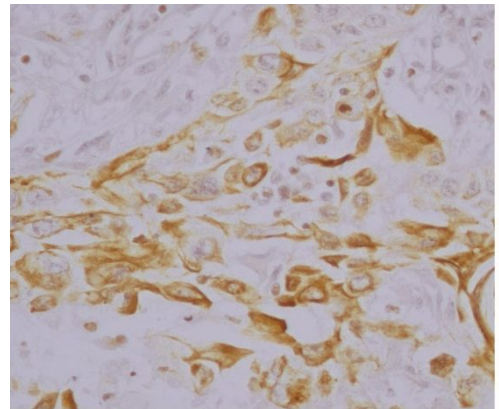


図 1

(2) DHRS9 について

Dehydrogenase/reductase member 9 (*DHRS9*) は、OSCC で TANGO に関連してダウンレギュレーションされる因子の一つである。DHRS9 は大腸癌などいくつかの悪性腫瘍で腫瘍抑制因子として作用することが報告されていますが、OSCC での発現は不明である。

98 例の OSCC 標本を用いて免疫組織化学を行ったところ、68 例 (69.4%) で DHRS9 発現の低下が観察された。DHRS9 の発現レベルと臨床病理学的因子との関連を統計解析で調べた結果、DHRS9 の発現は腫瘍の局所進展 (T 因子) と逆相関していた ($P = 0.0135$)。また、DHRS9 の発現が低い患者は、発現が高い患者よりも有意に予後不良であった ($P = 0.0443$)。さらに、コックス比例ハザードモデルを使用した多変量解析では、DHRS9 発現の減少は予後不良と強く相関していた (図 2)。

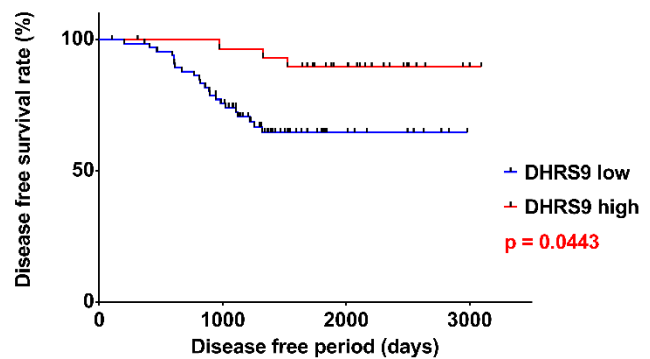


図 2

(3) SRPX2 について

Sushi repeat containing protein X-linked 2 (SRPX2) はいくつかのがんにおいて腫瘍促進的な作用を有していることが報告されているが、その報告はきわめて限定的であり、OSCC を含む悪性腫瘍における機能は不明なままである。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

161 例の OSCC 標本を用いた検討では 45 例(28%) が SRPX2 陽性であり、その発現はリンパ節転移 ($P = 0.028$)、血管新生 ($P = 0.0111$)、リンパ管新生 ($P = 0.0129$) と有意に相関していた。さらに、SRPX2 を発現している患者は予後が有意に悪かった ($P < 0.0001$)。ELISA の系を構築し OSCC 局所における SRPX2 の分泌濃度を測定したところ、SRPX2 の分泌濃度は uPAR および HGF の濃度と正の相関を認めた。*In vitro* の検討では、培養上清中への SRPX2 の分泌レベルは uPAR および HGF との相互作用により上昇した。また、SRPX2 が血管・リンパ管内皮細胞の増殖と内皮細胞と OSCC 細胞間の接着を促進することも明らかとなった。さらには、SRPX2 が OSCC の抗癌剤耐性の獲得にも関与していることを見いだした。

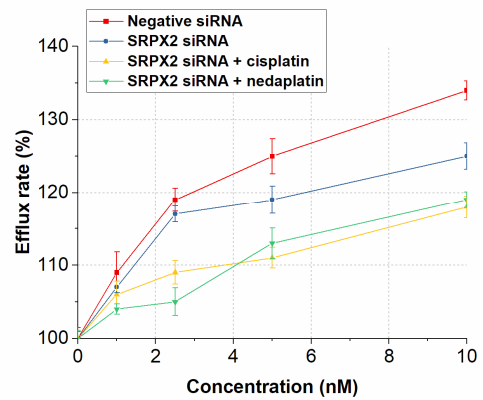


図 3

(4) SPRR1B と MUC20 について

TANGO に関連して発現変化する遺伝子を網羅的に解析した結果、TANGO を抑制することで発現減少ないし上昇する遺伝子として、それぞれ *mu*cin 20 (*MUC20*) と *small proline rich protein 1* (*SPRR1B*) を同定した。*MUC20* は、MMP-2 と E-カドヘリンの発現および c-met のリン酸化を介して、OSCC 細胞の増殖と浸潤性を増加させ。また、*MUC20* は VEGF-A および VEGF-C を活性化することで血管新生およびリンパ管新生を誘導した。*MUC20* の発現は、臨床病期 ($P = 0.0024$)、リンパ節転移 ($P = 0.0036$) および血管とリンパ管の数 ($P < 0.0001$) と有意に相関しており、*MUC20* を発現している症例は有意に予後不良であった ($P < 0.0001$)。一方で、高分化型 OSCC では *SPRR1B* の発現が高く ($P = 0.0091$) *in vitro* の検討では *SPRR1B* は細胞の角化に関与するとともに MAPK

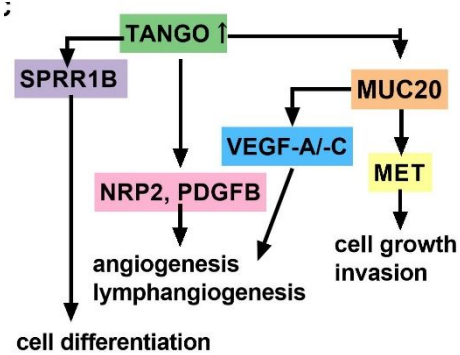


図 4

p38 のリン酸化を誘導することにより増殖を促進することが明らかとなった。

以上、TANGO に関連した新たな因子を複数同定することができ、これらは将来的に OSCC の診断ならびに治療における有用な分子マーカーとなる可能性が示唆される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shimomura H, Sasahira T, Nakashima C, Kurihara-Shimomura M, Kirita T	4. 巻 9
2. 論文標題 Non-SMC condensin I complex subunit H (NCAPH) is associated with lymphangiogenesis and drug resistance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 pii: E72
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm9010072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kurihara-Shimomura M, Sasahira T, Shimomura H, Bosserhoff AK, Kirita T	4. 巻 56
2. 論文標題 Mast cell chymase promotes angiogenesis and lymphangiogenesis mediated by activation of melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Oncol	6. 最初と最後の頁 1093-1100
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ijo.2020.4996	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 10.1136/jclinpath-2017-204770	4. 巻 71
2. 論文標題 Zinc finger AN1-type containing 4 is a novel marker for predicting metastasis and poor prognosis in oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Clin Pathol	6. 最初と最後の頁 436-41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/jclinpath-2017-204770	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sasahira T, Nishiguchi Y, Kurihara-Shimomura M, Nakashima C, Kuniyasu H, Kirita T	4. 巻 144
2. 論文標題 NIPA-like domain containing 1 is a novel tumor-promoting factor in oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Cancer Res Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 875-82
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00432-018-2612-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimomura H, Sasahira T, Nakashima C, Shimomura-Kurihara M, Kirita T	4. 巻 50
2. 論文標題 Downregulation of DHR9 is associated with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pathology	6. 最初と最後の頁 642-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.pathol.2018.06.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasahira T, Nishiguchi Y, Kurihara-Shimomura M, Nakashima C, Kuniyasu H, Kirita T	4. 巻 144
2. 論文標題 NIPA-like domain containing 1 is a novel tumor-promoting factor in oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Cancer Res Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 875-882
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00432-018-2612-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sasahira T, Bosserhoff AK, Kirita T	4. 巻 68
2. 論文標題 The importance of melanoma inhibitory activity gene family in the tumor progression of oral cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The importance of melanoma inhibitory activity gene family in the tumor progression of oral cancer	6. 最初と最後の頁 275-286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pin.12672	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中嶋千恵、山本一彦、谷 里奈、パワール ウジャール、笹平智則、桐田忠昭、國安弘基
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるME1発現と腫瘍促進の関係
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Malic enzyme 1 による口腔扁平上皮癌促進作用
2. 発表標題 中嶋千恵、栗原 都、山本一彦、パワール ウジャール、笹平智則、桐田忠昭、國安弘基
3. 学会等名 第76回日本癌学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	栗原 都 (Kurihara Miyako) (40453170)	奈良県立医科大学・医学部附属病院・研究員 (24601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------