

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11823

研究課題名(和文) 腫瘍血管内皮サイトカインレセプターの口腔癌の予後予測診断法への応用

研究課題名(英文) Application of tumor vascular cytokine receptor to prognostic diagnosis in oral cancer

研究代表者

佐藤 千晴 (Sato, Chiharu)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：50222013

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)：本研究では、口腔がんの腫瘍血管におけるCXCR7発現と臨床病理学的因子、予後との関係を検討し、バイオマーカーとしての有用性を探ることを目的とした。口腔扁平上皮がん組織およびその周囲の非がん部におけるCXCR7発現を組織免疫染色法により評価した。連続切片においてCD34組織免疫染色により血管を可視化し、血管との共局在の有無を解析した。非がん部では血管にほとんどCXCR7が発現していないのに対し、がん部ではがん細胞のみならず、血管にもCXCR7発現が認められた。腫瘍血管CXCR7高発現群は、低発現群に比べて進行例が多く、また無病生存率が低いことから、予後予測因子になる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんにおけるCXCR7発現については様々ながんで報告されつつあるが、口腔がんにおける腫瘍血管のCXCR7発現の意義についてはまだ報告はない。本研究により、口腔がん腫瘍血管でCXCR7の発現が亢進していること、それがステージなど臨床病理学的因子と関連があることが示唆された。さらに、腫瘍血管でCXCR7発現が高いと局所再発をきたす症例が多く、さらに無病生存率が低い傾向が示された。腫瘍血管におけるCXCR7発現が予後予測などバイオマーカーになり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the relationship between the CXCR7 expression in tumor blood vessels of oral cancer and clinicopathological factors and prognosis to search the usefulness as a biomarker. CXCR7 expression was analyzed in tumor tissues of oral squamous cell carcinoma and their surrounding non-tumor area by immunohistochemistry. Blood vessels were visualized by CD34 immunostaining in the serial section to investigate the co-localization with CXCR7. CXCR7 was barely stained in blood vessels of non-tumor area, whereas it was stained in tumor blood vessels. The advanced cases were more in CXCR7 high group compared to the low group. Disease-free survival tended to lower in the high CXCR7 group than in the CXCR7 low group. These data suggested that CXCR7 in tumor blood vessels can be a prognosis factor.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔がん 腫瘍血管 CXCR7

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 腫瘍血管内皮細胞の特徴とサイトカイン発現

腫瘍血管は、がん組織へ栄養や酸素を供給し、また転移の入り口となることからがんの進展や転移に重要な役割を果たしている。申請者らのグループはこれまで、腫瘍血管内皮細胞の分離と培養に成功し、正常組織内の血管内皮細胞と比較して高い血管新生能や薬剤耐性などをもつことを報告してきた (Cancer Res 2004, 2005, 2006, Cancer sci 2008, Am J Pathol 2009, 2012, 2014 など)。また、DNA microarray により、正常血管内皮に比べて腫瘍血管内皮において発現が亢進している遺伝子として複数の腫瘍血管内皮マーカーを同定した (Pathol Int 2012, 2013, Br J Cancer 2012, 2013, PLoS One 2014, Int J Cancer 2015 など)。

これまで見出してきた腫瘍血管内皮マーカーには COX2, PGE2, PTX3, IL6 などの炎症関連分子がいくつか存在する。またケモカイン受容体も発現が亢進していた。その中の一つに CXCR7 があるが、これはがんの悪性化と関連の深い CXCL12 の受容体として先に同定された CXCR4 よりも結合力が高いレセプターとして最近注目されている。CXCR7 はがん細胞のみならず腎がん、大腸がんなどにおいては腫瘍血管においても発現が高いことが見出されている。われわれは組織免疫染色だけではなく、ヒト臨床検体を用いて腫瘍血管内皮細胞と正常血管内皮細胞を分離培養し、それらの mRNA レベルにおいて発現量を比較した。その結果、腫瘍血管内皮細胞において有意に CXCR7 の発現が高いことを見出した。さらに CXCR7 が腫瘍血管内皮細胞の遊走能、管腔形成能などの血管新生能に関与していることを世界で初めて報告した (Int J Cancer 2015)。

(2) 口腔がんにおけるバイオマーカーの必要性

口腔がんの治療後には機能障害や審美障害などによる患者の QOL の低下がもたらされることが多く、外科的切除範囲の決定や、抗がん剤の適応などを決定するためのバイオマーカーの必要性は高い。これまでのわれわれの予備検討により、口腔扁平上皮がんの血管にも CXCR7 が発現していることを確認した。このことは腫瘍血管の性状が口腔がんの微小環境の特徴である炎症シグナルの亢進を反映させていると考えられる。

2. 研究の目的

口腔領域は様々な炎症刺激が加わることで多く、がんにおける炎症性細胞浸潤が悪性化にも深く関与していることが知られている。CXCR7 はケモカインレセプターであるが、CXCL12 の受容体として認識されてまだ日が浅いため、がんにおける機能に関しては未だ不明な点が多い。がんにおける炎症病態をとらえるためのバイオマーカーはいくつか報告されているが、血管に着目したものはほぼ皆無である。口腔がんの血管における CXCR7 の発現に関してはこれまで全く報告されていない。そこで本研究では、口腔がん血管における CXCR7 のバイオマーカーとしての可能性を探ることとした。

3. 研究の方法

(1) ヒト口腔がん腫瘍組織における CXCR7 発現解析

北海道大学病院口腔外科において口腔扁平上皮がんと診断された患者のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、がん組織およびその周囲の非がん部における CXCR7 発現を抗 CXCR7 抗体を用いた組織免疫染色法により解析した。

(2) 腫瘍血管における CXCR7 の発現解析

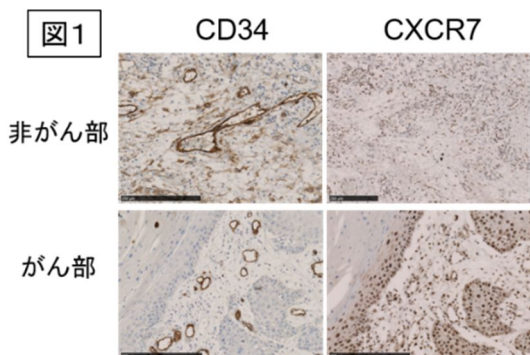
血管内皮細胞は抗 CD34 抗体を用いて組織免疫染色法により可視化した。CXCR7 免疫染色の結果とあわせて、血管との共同在の有無を解析した。なお、腫瘍血管における CXCR7 の発現は CD34 により染色される血管の数が最も多い領域 (hot spot) を 5 視野選び、その視野における全血管数に対する CXCR7 陽性血管数の割合により算出した。

(3) 腫瘍血管内皮細胞における CXCR7 発現と臨床背景との関連解析

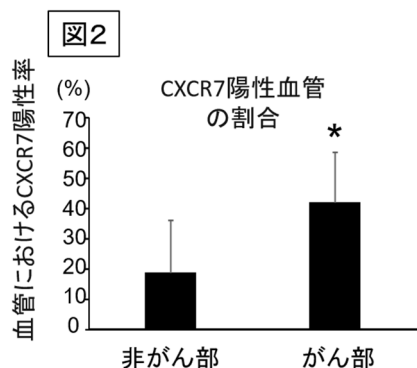
各症例の臨床的因子と CXCR7 発現の関連を統計学的に比較検討した。腫瘍血管 CXCR7 発現と臨床病理学的因子との関連を Mann-Whitney 検定にて解析した。さらに CXCR7 陽性血管の割合の中央値から CXCR7 低発現群・高発現群に分け、CXCR7 の発現と予後との関連を COX 比例 hazard モデルによる単変量もしくは多変量解析により解析した。

4. 研究成果

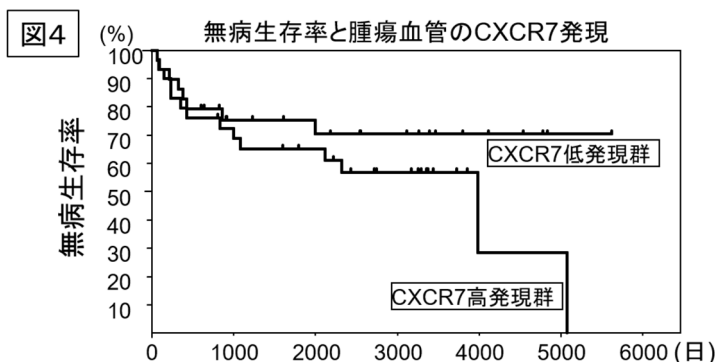
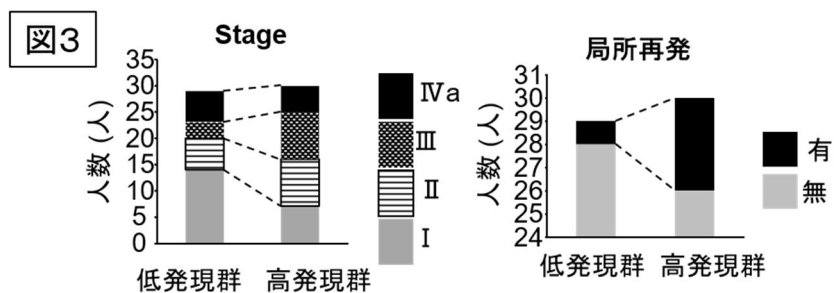
(1) 口腔がんのがん部および非がん部組織を用いて CXCR7 の免疫染色を行ったところ , がん部でより CXCR7 が染色された . 連続切片を用いて血管内皮マーカー CD34 を染色し , 血管との共局在を観察すると , 非がん部では血管にほとんど CXCR7 が発現していないのに対し , がん部ではがん細胞のみならず , 血管にも CXCR7 発現が認められた (図 1) .



(2) 腫瘍血管における CXCR7 の発現として , 全血管数に対する CXCR7 陽性血管数の割合により算出した . 非がん部よりもがん部の血管において , より CXCR7 陽性血管の割合が高かった (図 2) .



(3) 各症例の臨床的因子と CXCR7 発現の関連を統計学的に比較検討した . 腫瘍血管 CXCR7 高発現群は , 低発現群に比べて進行例が多く , また局所再発の確率が高かった (図 3) . さらに腫瘍血管 CXCR7 低発現群よりも高発現群において無病生存率が低く (図 4) , 腫瘍血管における CXCR7 発現が予後予測因子になる可能性が示唆された .



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nako Maishi, Dorcas A. Annan, Hiroshi Kikuchi, Yasuhiro Hida and Kyoko Hida	4. 巻 11
2. 論文標題 Tumor endothelial heterogeneity in cancer progression	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1511-1511
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers11101511	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Dorcas Akuba Muhyia Annan, Nako Maishi, Tomoyoshi Soga, Randa Dawood, Cong Li, Hiroshi Kikuchi, Takayuki Hojo, Masahiro Morimoto, Tetsuya Kitamura, Mohammad Towfik Alam, Kazuyuki Minowa, Nobuo Shinohara, Jin-Min Nam, Yasuhiro Hida, Kyoko Hida	4. 巻 17
2. 論文標題 Carbonic anhydrase 2 (CAII) supports tumor blood endothelial cell survival under lactic acidosis in the tumor microenvironment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Communication and Signaling	6. 最初と最後の頁 169-169
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12964-019-0478-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nako Maishi. §, Hiroshi Kikuchi. §, Masumi Sato, Hiroko Nagao-Kitamoto, Dorcas A. Annan, Shogo Baba, Takayuki Hojo, Misa Yanagiya, Yusuke Ohba, Genichiro Ishii, Kenkichi Masutomi, Nobuo Shinohara, Yasuhiro Hida, Kyoko Hida	4. 巻 20
2. 論文標題 Development of immortalized human tumor endothelial cells from renal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 4595-4595
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20184595	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 4件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 間石奈湖, 樋田京子
2. 発表標題 腫瘍血管内皮細胞によるBiglycanの分泌を介したがんの転移促進
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間石奈湖, 樋田京子
2. 発表標題 腫瘍血管内皮細胞によるBiglycanの分泌を介したがんの転移促進
3. 学会等名 第28回日本がん転移学会学術集会・総会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Maishi N. Hida K
2. 発表標題 Contribution of Tumor Endothelial Cells to Tumor Metastasis
3. 学会等名 International Symposium between National Yang-Ming University and Hokkaido University(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Maishi N., Kikuchi H., Abe T., Matsuno Y., Hida Y., Shinohara N., Hida K
2. 発表標題 Increased ABCB1 expression in tumor blood vessels of urothelial carcinoma after chemotherapy
3. 学会等名 The 38th Sapporo International Cancer Symposium(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 間石奈湖, 樋田京子
2. 発表標題 がんの転移における腫瘍血管内皮細胞の役割解明
3. 学会等名 第1回日本癌学会若手の会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Maishi N., Dorcas A. Annan, Soga T., Dawood Randa, Li Cong, Kikuchi H., Hojo T., Morimoto M., Kitamura T., Mohammad Towfik Alam, Shinohara N., Hida Y., Hida K
2. 発表標題 Carbonic anhydrase 2 (CA) is essential for tumor endothelial cell proliferation
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 樋田京子
2. 発表標題 腫瘍血管内皮細胞によるがんの転移促進
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Maishi N., Hida K.
2. 発表標題 Tumor endothelial cells in high metastatic tumors promote metastasis via biglycan
3. 学会等名 Protein Island Matsuyama 2017 International Symposium（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Hida K., Maishi N., Hida Y	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer Japan	5. 総ページ数 325
3. 書名 Cancer Drug Delivery Systems Based on the Tumor Microenvironment	

1. 著者名 樋田京子, 間石奈湖	4. 発行年 2019年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 137
3. 書名 実験医学	

〔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	菊地 奈湖 (間石奈湖) (Maishi Nako) (00632423)	北海道大学・歯学研究院・助教 (10101)	
研究 分担者	大賀 則孝 (Ohga Noritaka) (40548202)	北海道大学・歯学研究院・助教 (10101)	