

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592831

研究課題名(和文) アクアポリンをターゲットとした扁平上皮癌の増殖・転移抑制

研究課題名(英文) Inhibition of SCC proliferation and metastases with targeting aquaporin

研究代表者

谷口 佳孝 (Taniguchi, Yoshitaka)

大阪大学・歯学研究科(研究院)・招聘教員

研究者番号：10551468

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平上皮癌においてアクアポリン3と5が高発現していることを明らかにした。これらの分子は正常上皮には発現していないことから、癌化した細胞に異所性に高発現することが明らかになった。更にアクアポリン3あるいはアクアポリン5をノックダウンすることにより、癌細胞の増殖に重要な役割を果たしていることが明らかになった。更にFatty acid-binding protein (FABP) を同定した。これらの分子もやはり扁平上皮癌の癌部に特異的にかつ異所性に高発現しており、癌細胞の増殖に対してMAPKの経路に関わっていることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Expression of aquaporin 3, 5 in oral squamous cell carcinoma (SCC) was much higher, whereas it in normal epithelium was null, suggesting ectopic expression of aquaporins in oral SCC. Knock-down of aquaporins in oral SCC cell lines resulted in the inhibition of cell proliferation. Moreover, we detected fatty acid-binding protein (FABP) in SCC proliferation. FABPs were expressed highly in oral SCC ectopically. FABP has an important role in proliferation of SCC through the MAPK pathway.

研究分野：口腔外科

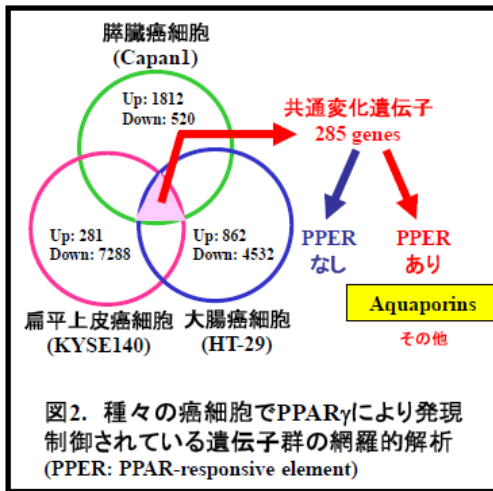
キーワード：扁平上皮癌 アクアポリン 脂肪酸結合たんぱく質

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究で、核内受容体である Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ)、およびその転写調節によって発現が制御されるいくつかの分子が、扁平上皮癌細胞の増殖・浸潤に重要な役割

を果たしていることを報告している (Cancer Science 102;1128-1136,2011, Cancer Research 65:2251-2259,2005, Clin Cancer Res. 11:4012-4021,2005.)。この PPAR γ は本来、脂肪細胞の分化やインスリン感受性に重要な役割を果たす核内受容体であるが、癌細胞に高発現しており、癌細胞の増殖・浸潤・転移に重要な影響を

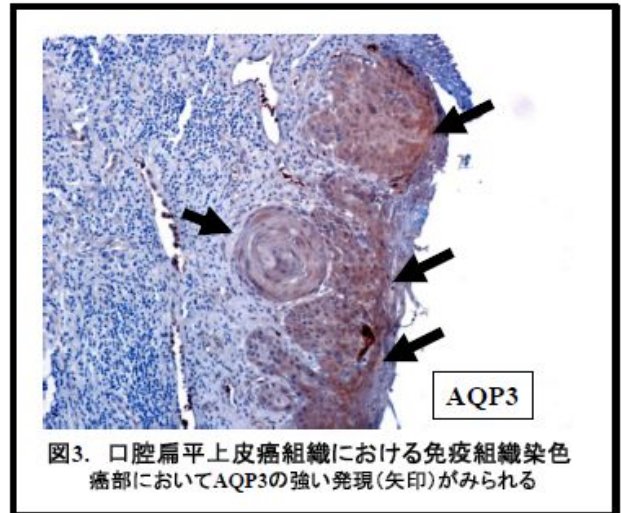
及ぼす可能性が示唆されている。さらに我々は、この PPAR γ によって発現が制御されている分子の中で癌細胞の増殖に密接にかかわっている遺伝子について、DNA microarray を用いた網羅的解析を行った。その結果、扁平上皮癌や大腸癌といった種々の癌細胞の増殖において、PPAR γ により発現が制御されている分子の一つとして、Aquaporin(AQP)を見出した(図2)



AQP ファミリーは、水チャネルとして水の透過性に重要な役割を果たしていることが知られているが、その中でも AQP3 は近年、皮膚癌や肺小細胞癌などの癌組織において発現していることが報告された。(Mol Cell Biol. 28;326-32,2008. Hum Pathol. 38;171-8,2007.)。

しかしながらこれまでに、AQP の扁平上皮癌増殖における詳細な検討は行われてこなか

った。その理由は腺組織と違い、扁平上皮にはもともと AQP 自体の発現は低いと考えられてきたためである。その一方で我々は、DNA Microarray の結果をもとにヒト口腔扁平上皮癌組織の免疫染色を行ったところ、同一組織切片上の非癌部に比較して、癌部において AQP3 が高発現していることを見出した(図3)。



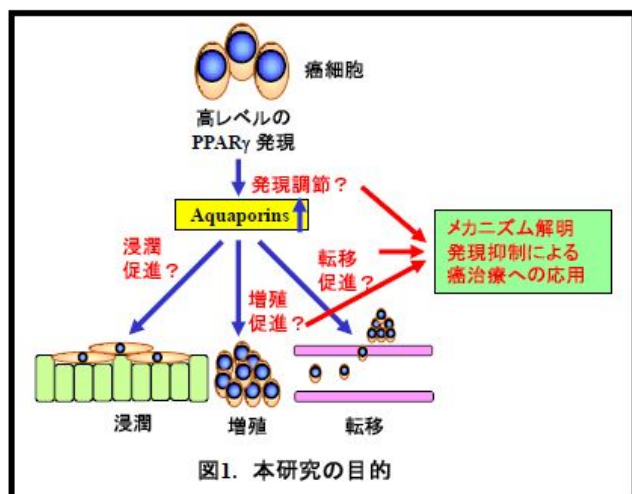
この結果は DNA microarray の結果を裏付けるものであり、AQP3 が扁平上皮癌細胞の増殖に重要な役割を果たす可能性が考えられた。また、AQP は水分子の他にグリセロール、尿素といった水溶性低分子の透過を調節することで細胞形態の維持に関与することも指摘されている。これらのことから AQP が癌細胞の浸潤・転移にもかかわっている可能性は高いと考えられる。

また、これまでの予備的検討から、AQP3 の他に扁平上皮癌で AQP5 が高発現していることも確認している。

2. 研究の目的

本研究では、我々がこれまでに見出した AQP3 と AQP5 の扁平上皮癌での高発現に着目し、これらの AQP を標的とした癌の増殖・浸潤・転移抑制を目的とした検討を行うことを試みる(図1)。すなわち、ヒト扁平上皮癌

組織切片を用いた AQP3 と AQP5 の発現の検討、培養扁平上皮癌細胞を用いた AQP 阻害による癌細胞の増殖・浸潤抑制の検討、マウス癌転移モデルを用いた検討、およびそのメカニズムを解析することにより、扁平上皮癌における AQP ファミリーの役割を明らかにする。さらに、AQP 阻害による扁平上皮癌細胞の増殖抑制メカニズムは既存の抗癌剤と異なる可能性が高いことから、AQP 阻害と抗癌剤の併用による相乗効果も期待できる。両者の併用による相乗効果が認められれば、抗癌剤の投与量を減らすことが可能になり、副作用の軽減にもつながる可能性も考えられる。



3. 研究の方法

組織切片での免疫染色実験系

口腔扁平上皮癌の病理組織切片を用いて AQP3、および AQP5 の免疫組織染色を行い、その発現強度をスコア化して評価を行った。また、FABP-4 の発現も検討した。」

in vitro 培養細胞実験系での AQP ノックダウン

AQP3 および AQP5 特異的な siRNA をそれぞれ設計・作製し、それぞれの siRNA を扁平上皮癌細胞に transfection して AQP3、および AQP5 の発現が抑制されていることをウェスタンブロット法、および PCR により確認した。この siRNA を扁平上皮癌細胞細胞に transfection し、その増殖を検討した。さらに FABP-4 についても検討した。

4. 研究成果

口腔扁平上皮癌においてアクアポリン 3 と 5 が高発現していることを舌癌患者組織切片の免疫染色から明らかにした。これらの分子は正常上皮には殆ど発現していないことから、癌化した細胞に異所性に高発現することが明らかになった。更にアクアポリン 3 あるいはアクアポリン 5 を siRNA を用いて特異的にノックダウンすることにより、培養癌細胞の増殖を有意に抑制することができた。これらの結果から、アクアポリンが癌細胞の増殖に重要な役割を果たしていることが明らかになった。また、更に詳細な検討を加えた結果、アクアポリンによる癌細胞増殖のメカニズムも明らかにすることができた。また唾液腺腺様嚢胞癌組織ではこれらの分子の発現が認められず、扁平上皮癌に有意であった。

更に、アクアポリンと関連する分子が、アクアポリンと同じように扁平上皮癌の増殖をコントロールしている可能性も見出された。その分子の一つが Fatty acid-binding protein (FABP) であった。これらの分子もやはり扁平上皮癌の癌部に特異的にかつ異所性に高発現していた。中でも FABP-4 の高発現が確認され、ノックダウンによって、増殖が抑制された。FABP-4 も AQP3,5 もその下流に MAPK の発現と、リン酸化の低下が確認された。

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 2 件)

Lee D, Wada K, Taniguchi Y, Al-Shareef H, Masuda T, Usami Y, Aikawa T, Okura M, Kamisaki Y, Kogo M.

Expression of fatty acid binding protein 4 is involved in the cell growth of oral squamous cell carcinoma.

Oncology Reports 31: 1116-1120, 2014.

Ishimoto S, Wada K, Usami Y, Tanaka N,

Aikawa T, Okura M, Nakajima A, Kogo M, Kamisaki Y.

Differential expression of aquaporin 5 and aquaporin 3 in squamous cell carcinoma and adenoid cystic carcinoma. Int J Oncol. 2012 Jul;41(1):67-75. doi: 10.3892/ijo.2012.1445.

〔学会発表〕(計 3件)

Doksa Lee, Koichiro Wada, Yoshitaka Taniguchi, Tomonao Aikawa, Masaya Okura, Yoshinori Kamisaki, Mikihiro Kogo. Ectopic expression of fatty acid binding protein 4 is involved in cell growth of lingual squamous cell carcinoma.

The 21st edition of the International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery.

2013年10月21日~24日
Barcelona, Spain

李 篤史、谷口 佳孝、大倉 正也、相川 友直、古郷 幹彦 口腔扁平上皮癌における fatty acid binding protein4 (FABP4)の役割について第58回日本口腔外科学会総会(2013年10月11-13日・福岡)

口腔扁平上皮癌における fatty acid binding proteins (FABPs) の役割について 李 篤史、谷口 佳孝、大倉 正也、相川 友直、古郷 幹彦、日本口腔科学会学術集会。東京 2014/5/7-9

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者 谷口佳孝
(TANIGUCHI, Yoshitaka)
大阪大学大学院歯学研究科 招聘教員
研究者番号：10551468

(2)研究分担者 大倉正也
(OKURA, Masaya)
大阪大学大学院歯学研究科 准教授
研究者番号：10281130

和田孝一郎 (WADA, Koichiro)
鳥取大学医学部 教授
研究者番号：90263467

(3)連携研究者 ()

研究者番号：