

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861694

研究課題名(和文) 口腔癌における腫瘍血管内皮細胞の多様性解明と新規分子標的薬への応用

研究課題名(英文) Elucidation of heterogeneity in tumor endothelial cell in oral cancer and application for new antiangiogenic drug

研究代表者

大賀 則孝 (Noritaka, Ohga)

北海道大学・歯学研究科・助教

研究者番号：40548202

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は口腔癌における低酸素状態と腫瘍血管の多様性の関係について研究を行った。PETで低酸素の状態を解析された症例で解析した。低酸素腫瘍での微小血管密度は、非低酸素腫瘍に比べて高かった。PETでの低酸素状態、HIF-1陽性腫瘍、微小血管密度が相関が認められた。低酸素腫瘍での腫瘍近傍では、形態的に非機能的で未熟な血管が多く認められた。さらに新規腫瘍血管内皮マーカーの発現解析のために、ケモカインレセプターであるCXCR7に着目した。口腔癌部のCXCR7陽性血管の割合は、非癌部の腫瘍血管に比べて割合が高かった。腫瘍血管のCXCR7発現は患者の予後予測マーカーとして応用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In addition, we have reported that tumor endothelial cells (TECs) differ from normal endothelial cells (NECs) in many aspects, such as gene expression profiles. For example, CXCR7 is reportedly highly expressed in TECs of several tumors, such as renal carcinomas and colon cancers. However the expression of CXCR7 in oral squamous cell carcinoma (OSCC) has not been reported. In this study, we examined the relationship between CXCR7 expression in TECs and clinicopathological factors in OSCCs. CXCR7 expression in blood vessels was 42% and 19% in tumor tissue and in normal tissue, respectively, suggesting that CXCR7 expression is higher in TEC than in NEC in OSCC. The expression of CXCR7 in TEC were correlated with the T pathological stage (P=0.04). These results suggested that CXCR7 expression may be useful as a prognostic marker of OSCCs.

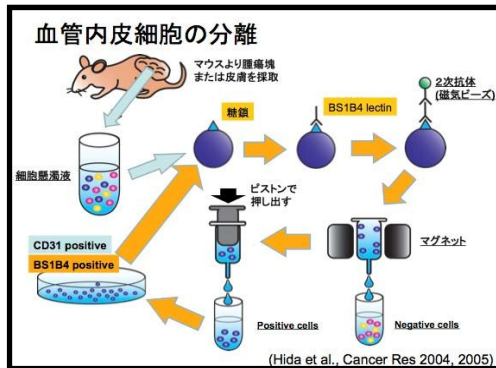
研究分野：腫瘍血管新生

キーワード：腫瘍血管新生 腫瘍血管内皮マーカー CXCR7

## 1. 研究開始当初の背景

口腔癌において、低分化型口腔癌は浸潤性・悪性度が高く、急速に転移を起こすことがある。一方、癌が低酸素状態になると誘導される腫瘍血管新生は癌の浸潤性や悪性度と相関があり、高分化型に比べ中・低分化で有意に高いとする報告が散見される。低酸素状態から誘導される腫瘍血管新生は口腔がんの浸潤や悪性化にも重要な役割を果たしているものと思われる。

申請者らは、これまで腫瘍血管内皮を分離・培養し、それまでの概念に反し、正常血管内皮と比較して growth factor や薬剤への感受性や遺伝子発現、増殖能、遊走能などが異なることを報告してきた (*Cancer Sci* 2009, 2013)



(図1)。

さらに、申請者は転移能が異なる腫瘍由来の血管内皮細胞の間には、遺伝子発現や生存性などの差異があることを証明し、がんの悪性度・転移度が異なると、血管内皮細胞の性質も異なる可能性があることを世界で初めて示した。さらには悪性度の高い腫瘍血管は低酸素状態に曝されていることもわかった。(Ohga, *Hida et al Am J Pathol* 2012 **掲載紙ハイライトに選出**)。

しかしながら、口腔癌において低酸素状態に曝されている部位とそうでない部位(非低酸素部位)の腫瘍血管の性質の違い、すなわち多様性があるのかどうかは知られていなかった。

また、われわれはこれまで腫瘍血管内皮細胞には正常血管内皮細胞と比較して発現の高い分子が複数あることを報告してきた。その中でケ

モカインレセプターであるC-X-C chemokine receptor type 7 (CXCR7) は腎癌など幾つかの癌の腫瘍血管において発現していることを報告してきた。しかし口腔扁平上皮癌の血管内皮細胞におけるCXCR7の発現については未だ不明である。

## 2. 研究の目的

- 1)本研究では口腔癌の低酸素状態にある腫瘍血管内皮細胞の性質の多様性の解明を目的とした。
- 2)新規分子標的薬開発のための新規腫瘍血管内皮マーカーを探索することとした。なかでも腫瘍血管におけるCXCR7、バソヒピン1、分泌タンパクであるPTXの発現の有無に注目して解析した。その上で診断、予後予測に有用なバイオマーカーとしての可能性を探ることも目的とした。

## 3. 研究の方法

- 1)低酸素状態を描出できる FMISO-PET で低酸素状態と判断された口腔癌とそうでない非低酸素状態における口腔癌症例(27 症例)に対して検討を行った。以下の血管内皮関連マーカーCD31、低酸素症例は FMISO-TMR 1.25 の症例を、非低酸素症例は FMISO-TMR<1.25 の症例と定義した。
- 2)北海道大学病院にて切除された口腔扁平上皮癌の組織検体のうち、HE 染色、CD34 免疫染色による解析が可能な症例を用いた。ランダムに選択した 10 視野から hot spot (CD34 陽性血管が特に多い領域) を 5 視野選択し、連続切片で CXCR7 抗体、バソヒピン1、PTX による免疫染色を行い、CXCR7 陽性血管の割合を算出して評価した。

## 4. 研究成果

- 1) 今回 FMISO-PET で解析された口腔癌 27 症例において、低酸素腫瘍(FMISO-TMR 1.25)での微小血管密度は、非低酸素腫瘍に比べて高かった。HIF-1 陽性腫瘍では微小血管密度が高い傾向が認められた。低

酸素腫瘍での腫瘍近傍では、形態的に非機能的で未熟な血管が多く認められた。

2) PTX3 は正常部分の腎臓の血管内皮細胞に比べて、腎がん血管内皮細胞で高発現していた。PTX3 は分泌タンパクであり、血中に移行する。本分子が血管新生阻害療法の有用なバイオマーカーである可能性が示唆された。

3) 癌部の CXCR7 陽性血管の割合は 41.9%、非癌部における陽性血管の割合は 18.8% で、非癌部に比較し癌部の血管では有意に CXCR7 発現の割合が高かった。また、腫瘍血管における CXCR7 発現は、腫瘍径の大きさ (T 分類) および Stage 分類と正の相関が認められた。

#### 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 10 件)

2017年

1. Successful conservative treatment of osteonecrosis of jaw caused by denosumab in patients with multiple bone metastasis.

Ohga.N\*, Sato.J, Asaka.T, Moritomoto.M, Yamazaki.Y, Kitagawa.Y  
*Journal of oral science 2017 in press*

\*:Corresponding author

2. Unusual maxillary osteoblastic and osteolytic lesions presenting as an initial manifestation of childhood acute myeloid leukemia: a case report

Shimizu.R, Ohga.N\*, Miyakoshi.M, Asaka.T, Sato.J, Kitagawa.Y

\*:Corresponding author

*Quintessence Int* 2017;48(2):149-153. doi: 10.3290/j.qi.a37383.

3. Vasohibin-1 as a Novel Prognostic Factor for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma.

Torii C, Hida Y, Shindoh M, Akiyama K, Ohga N, Maishi N, Ohiro Y, Ono M, Totsuka Y, Kitagawa Y, Tei K, Sato Y, Hida K.

*Anticancer Res.* 2017 Mar;37(3):1219-1225.

2016年

4. Tumor endothelial cells express high pentraxin 3 levels.

Hida K, Maishi N, Kawamoto T, Akiyama K, Ohga N, Hida Y, Yamada K, Hojo T, Kikuchi H, Sato M, Torii C, Shinohara N, Shindoh M.

*Pathol Int.* 2016 Dec;66(12):687-694.

doi:5.1111/pin.12474. Epub 2016 Nov 14.

PMID: 27862647 Similar articles Select item 27837344

5. Platelet-rich fibrin may reduce the risk of delayed recovery in tooth-extracted patients undergoing oral bisphosphonate therapy: a trial study. Asaka T, Ohga N, Yamazaki Y, Sato J, Satoh C, Kitagawa Y.

*Clin Oral Investigation.* 2016 Nov 11.

PMID: 27837344 Similar articles Select item 27497081

6. Elimination of oral candidiasis may increase stimulated whole salivary flow rate.

Ohga N\*, Yamazaki Y, Sato J, Asaka T, Morimoto M, Hata H, Satoh C, Kitagawa Y

\*:Corresponding author *Arch Oral Biol* 2016 Nov 71:129-133. 査読あり

doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.06.028.

7. Tumour endothelial cells in high metastatic tumours promote metastasis via epigenetic dysregulation of biglycan Maishi N, Ohba Y, Akiyama K, Ohga N, Hamada J, Nagao-Kitamoto H, Alam MT, Yamamoto K, Kawamoto T, Inoue N, Taketomi A, Shindoh M, Hida Y, Hida K.

Sci Rep. 2016 Jun 13;6:28039. doi:

10.1038/srep28039.査読あり

2015年

8. Evaluation of the level of progression of extracapsular spread for cervical lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma.

Yamada S, Yanamoto S, Otani S, Hasegawa T, Miyakoshi M, Minamikawa T, **Ohga N**, Kamata T, Komori T, Kitagawa Y, Kurita H, Umeda M.

*Int J Oral Maxillofac Surg.* 2016

Feb;45(2):141-

6. Epub 2015 Oct 2. 査読あり

9. Marked bone production from the mandibular head to the reconstructed fibula after chemoradiotherapy for the recurrent tumor

Satoh.A, **Ohga.N\***, Asaka.T,

Kitagawa.Y

\*:Corresponding author

*Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*

Volume 27, Issue 6, November 2015,

Pages 829–833 査読あり

10. Dose escalation effectiveness and tolerability of paroxetine in patients with burning mouth syndrome and depressive conditions.

**Ohga.N\***, Yamazaki.Y, Sato.J, Hata.H, Murata.T, Sakata.K, Inoue.T,

Kitagawa.Y

\*:Corresponding author

*Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*

Volume 27, Issue 3, May 2015, Pages

402–406 査読あり

11. Healing of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after discontinuation of denosumab in a patient with bone metastases of colorectal cancer: a case report and hypothesis.

**Ohga N\***, Yamazaki Y, Tsuboi K,

Kitagawa Y

\*:Corresponding author

*Quintessence Int.* 2015 Jul-Aug;46(7):621-6.

doi: 10.3290/j.qi.a33528.

査読あり

(学会発表)(計 2 件)

1.口腔扁平上皮癌における腫瘍血管マーカーCXCR7の発現と臨床病理学的因子との比較解析

柳谷美沙,間石奈湖,鳥居ちさほ,大賀則孝,鄭

漢忠,進藤正信,北川善政,樋田京子

2017年口腔科学会、ひめぎんホール(愛媛県、松山市)

2.口腔癌のFMISO-PETで描出された低酸素領域と腫瘍血管密度(MVD)との関係

大賀則孝,佐藤淳,浅香卓哉,宮腰昌明,佐藤千晴,進藤正信,北川善政

2017年口腔科学会、ひめぎんホール(愛媛県、松山市)

(図書)(計 件)

(産業財産権)

出願状況(計 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 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

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

大賀 則孝 (OHGA Noritaka)

北海道大学・大学院歯学研究科・助教  
研究者番号:40548202