

令和元年6月12日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11715

研究課題名(和文)低酸素誘導因子を標的とした分子イメージング支援新規口腔癌治療戦略の確立にむけて

研究課題名(英文)Strategy development of hypoxia inducible factor targeted molecular image guided oral cancer treatment

研究代表者

宮腰 昌明(Miyakoshi, Masaaki)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：90614933

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：FDG-PET、FMISO-PET撮影症例につき、保存されていた病理標本中の2000個を超えるリンパ節標本を検証。75個の転移陽性リンパ節を対象に組織染色し転移病巣におけるHIF1発現、上流シグナルの活性化状態、周囲組織中の微小血管構築についても検討を加えた。結果、転移腫瘍病巣における腫瘍特異的なHIF1高発現は常圧酸素環境下における現象であり、腫瘍組織特異的な酸素要求度の相違に起因する相対的な低酸素状態でも説明できない発現パターンであることを究明し、シグナルトランスダクション経路の腫瘍特異的な異常活性化により制御される低酸素非依存的なHIF1活性化であることが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低酸素誘導因子(HIF1)は様々な細胞生物学的機能を有し、治療標的候補として考えられてきた。しかし、その誘導様式から組織中低酸素環境との関連についてはこれまであまり詳細に検証されてこなかったため、世界的に見ても分子標的として直接的に機能を抑制せず、腫瘍組織中の低酸素環境改善をもって治療効果を目指そうとしてきた。

本研究結果から、常圧酸素環境下においても腫瘍組織中でHIF1活性化が見られることからHIF1完全抑制のためには低酸素改善では不十分で、HIF1自体の転写活性抑制こそが治療目標となるというパラダイムシフトが起こる。革新的な癌治療につながる可能性から本研究結果の持つ社会的意義は計り知れない。

研究成果の概要(英文)：In this study, we used over 2000 of operative enucleated cervical lymph node. By immuno-staining we examined tumor specific HIF1 over expression, up-stream signal activation status, and micro vessel structure of surrounding normal tissue in 75 of the metastasis positive lymph nodes.

Tumor specific HIF1 over expression occurred under normoxic condition. This special pattern wasn't related only to tissue oxygen tension, also tumor specific highly amount of oxygen requirement. At the same time, up-stream signal activation was observed in parallel to HIF1 over expression. These results strongly suggest this HIF1 overexpression is controlled by up-stream signal pathway in hypoxia-independent manor.

研究分野：口腔がんにおける分子生物学

キーワード：低酸素 転移 口腔がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

癌細胞は非常に高い増殖活性を示し、その必要エネルギーは高度に亢進した代謝活性により維持されている。この機構には腫瘍進展とともに生じる低酸素環境下において高発現する転写因子 HIF1 の活性化による糖代謝亢進が深く関与していると理解されており (Nat Rev Cancer. 2008 Sep;8(9):705-13.)、口腔癌を含む多くの癌において病変中の HIF1 発現は患者の生命予後と密接に関連し、高発現症例では高率な再発・転移により有意に予後が不良となる (Histopathology 2011 Jun;58(7):1136-47.)。

しかし、臨床において非常に高い代謝活性を示す腫瘍組織において糖質の取り込み活性を利用した FDG-PET では高率に陽性所見が得られるのに対し低酸素領域を反映する FMISO-PET においては、陽性所見の検出率は低くとどまっている。この乖離により高度の代謝活性を低酸素状態単独では説明しえない症例が存在するが、低酸素検出感度の問題と解釈されてきた。

一方、ヒト腫瘍組織中の酸素分圧については、体内臓器における実測が困難なこともあるが、あまり注目されてきた経緯はなく、国内外を問わず信憑性の高い臨床データの報告はなかった。また、これまでに腫瘍血管を治療標的とし、低酸素状態の改善を目指した研究が進み (Physiol Rev 2011;91:1071-1121) 多くの国で承認された製剤 (ex. Avastin®) も臨床応用されているが制限も多く、有効な治療法として確立したものは存在しなかった。

### 2. 研究の目的

癌組織において検出される低酸素環境は、低酸素応答遺伝子 HIF1 を主体としたシグナル経路を活性化、腫瘍の代謝活性を亢進し、患者の生命予後に重大なインパクトを与える。

現在、低酸素状態改善を目指した研究が世界中で進行中だが有効な治療方法の確立には至っていない。これまでわれわれは腫瘍特異的で低酸素非依存的な HIF1 活性化による代謝活性亢進を証明したが、腫瘍特異性が非常に高いことから革新的な癌治療に直結する可能性が高い。

本研究では治療応用を最終目標に低酸素非依存的代謝活性亢進機構の制御法を確立する。

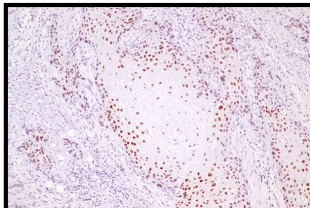
### 3. 研究の方法

組織中酸素分圧の測定によりヒト口腔がん病巣における低酸素環境の絶対的評価を行う。FDG-PET、FMISO-PET の画像所見を組織中酸素分圧と対比して評価する。同時に HIF1 発現に関して上流シグナルの検討と共にその持ちうる生物学的意義を検討する。

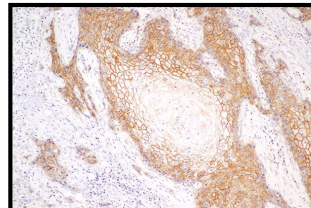
病理組織標本での検討の後、細胞生物学的な検証、コンディショナルノックアウトマウスでの原因遺伝子の特定し、がん治療にむけた創薬ステップへ移行していく。

### 4. 研究成果

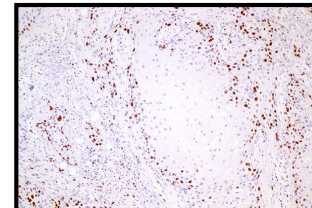
先行研究の結果として口腔がん転移陽性頸部リンパ節の手術標本を用いて、腫瘍特異的な HIF1 高発現とそれと同様な局在が観察された GUL1 高発現、Ki67 ラベリングインデックスの上昇という諸現象論に立脚して研究を進めた。



HIF1 高発現



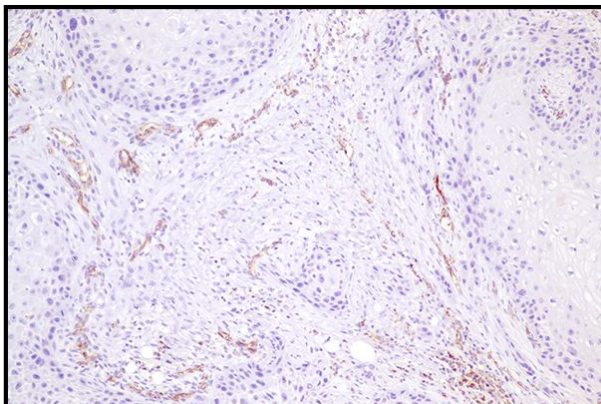
GUL1 高発現



Ki67 陽性細胞増加

### (成果1)

#### CD31 免疫染色：腫瘍組織および周囲健常組織中における血管構成の検証

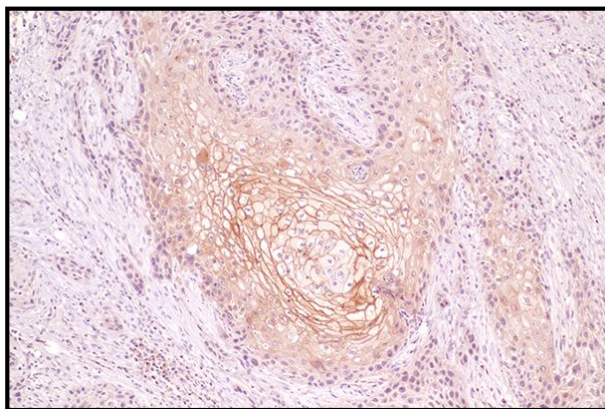


リンパ節内に留まる大きさの口腔がんリンパ節転移巣では腫瘍胞巣内に CD31 陽性を示す血管構築は認めなかった。

腫瘍浸潤先端に強く発現する HIF1 発現の局在は、血管からの距離に起因する組織中酸素濃度勾配では説明できず、腫瘍特異的に相対的に高度な酸素要求度の存在を考慮しても、低酸素非依存的な発現パターンと考えられた。

## (成果 2)

### リン酸化 mTOR 免疫染色 : HIF1 転写制御、上流シグナル活性化状態の検証

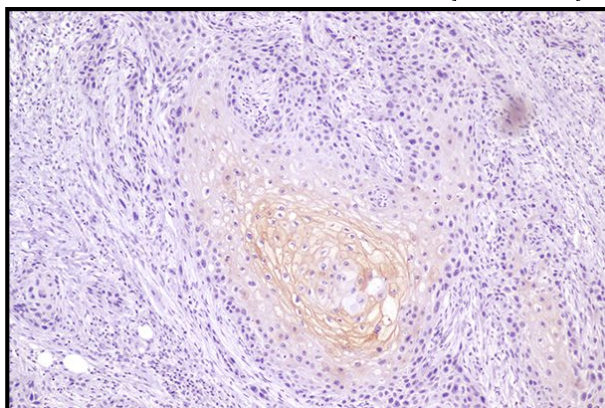


細胞質局在を示すシグナル分子として活性型であるリン酸化状態にある mTOR について検討した。

小胞巣を含め、腫瘍徳的な活性化パターンを示し、腫瘍組織内局在としては HIF1 発現を直接的に制御していることが想定される腫瘍浸潤先端優位な染色が観察された。

## (成果 3)

### リン酸化 Akt 免疫染色 : mTOR 活性化 (リン酸化) 制御、上流シグナル活性化状態の検証



HIF1 転写制御に大きな役割を果たす mTOR リン酸化であるが、既報告では細胞外シグナルにより活性化を受けた Akt が主体となり、一連のシグナル活性化をもたらすとされている。

本研究での検討では、細胞質局在を示す Akt のリン酸化状態が観察されたが、逆に腫瘍浸潤先端ではリン酸化が弱く、HIF1 高発現に関して直接的な関与ではなく、他の上流シグナルと協調するかたちで役割を果たしているものと考えられた。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

宮腰 昌明、佐藤 淳、北川 善政、北海道大学病院歯科診療センターにおける HIV 陽性患者受診動向 受け入れ初期より 30 年が経過して、第 32 回エイズ学会学術集会・総会、2018  
宮腰 昌明、角化嚢胞性歯原性腫瘍術後、病的骨折部位に異常骨吸収を認めた 1 例、第 18 回日本口腔顎顔面外傷学会・学術大会、2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

特記事項なし

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名 : 北川 善政

ローマ字氏名 : Kitagawa Yoshimasa

所属研究機関名 : 北海道大学

部局名 : 大学院歯学研究院

職名 : 教授

研究者番号 (8 桁) : 00224957

研究分担者氏名 : 佐藤 淳

ローマ字氏名：Sato Jun  
所属研究機関名：北海道大学  
部局名：大学院歯学研究院  
職名：講師  
研究者番号(8桁)：60319069

研究分担者氏名：秦 浩信  
ローマ字氏名：Hata Hironobu  
所属研究機関名：独立行政法人国立病院機構北海道がんセンター(臨床研究部)  
部局名：臨床研究部  
職名：歯科口腔外科医師  
研究者番号(8桁)：70450830

(2)研究協力者

研究協力者氏名：木村 芝生子  
ローマ字氏名：Kimura Shioko

研究協力者氏名：岡本 実  
ローマ字氏名：Okamoto Minoru

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。