

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462790

研究課題名(和文)新規口腔癌関連遺伝子による新たな血管・リンパ管新生機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of angio and lymphangiogenesis mechanism by novel oral cancer-related gene

研究代表者

笹平 智則 (Sasahira, Tomonori)

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌の血管・リンパ管新生に関連した新規遺伝子としてN4BP2L1とSTOX2を見いだした。N4BP2L1の発現はマイクロRNAであるmiR-448により制御されており、リンパ節転移症例ならびに予後不良症例ほどN4BP2L1が高発現していた。またSTOX2はMIAを介したパラクライン機構により発現調節され、血管・リンパ管新生のみならず抗がん剤に対する多剤耐性獲得能を有することが明らかとなった。口腔癌症例ではリンパ節転移症例ほどSTOX2の発現レベルが高かった。これらの知見は新たな口腔癌の分子標的診断・治療の可能性を期待させるものである。

研究成果の概要(英文)：We found that N4BP2L1 and STOX2 are novel angiogenesis and lymphangiogenesis factor in oral cancer. Expression of N4BP2L1 was regulated by the activation of miR-448. Overexpression of N4BP2L1 was significantly associated with nodal metastasis and poor prognosis in oral cancer specimens. We also revealed that MIA increased expression of STOX2 by paracrine manner in oral cancer cells. Furthermore, STOX2 expression was associated with acquisition of multidrug resistance and nodal metastasis in oral cancer. Our findings indicate that N4BP2L1 and STOX2 may be a useful diagnostic and therapeutic target in oral cancer.

研究分野：口腔病理学

キーワード：口腔癌 新規マーカー 浸潤・転移

1. 研究開始当初の背景

VEGF family を介した血管・リンパ管新生は悪性腫瘍の進展・転移を促進するが、VEGF は生理的にも重要な作用を担っているために VEGF シグナルを標的とした抗癌剤は高血圧・タンパク尿・出血・血栓形成・消化管穿孔などの重篤な副作用が問題となる。さらに口腔癌においては血管・リンパ管新生を標的とした分子治療・診断はいまだ実用化されていない。口腔癌におけるあらたな分子標的診断・治療の開発が急がれる。

2. 研究の目的

口腔癌の進展・リンパ節転移には、VEGF family 等が中心的な役割を果たす腫瘍血管新生・リンパ管新生が不可欠である。しかしながら上記の因子はほとんどが VEGF family 依存的な血管・リンパ管新生因子である。VEGF シグナルは正常の内皮細胞にも生理的に作用することより、VEGF シグナルを標的とした薬剤では重篤な副作用が問題となる。副作用の少ない安全な抗血管新生・リンパ管新生療法の開発のためには、VEGF family 非依存的な新たな血管・リンパ管新生マーカーを模索することが急務の課題であると考えられる。

口腔癌の VEGF シグナル非依存的な新規腫瘍血管新生・リンパ管新生因子の詳細な機能、ならびに発現調節機構の詳細を解明することにより、新たな分子標的診断ならびに副作用の少ない分子標的治療の可能性が開拓されることが期待される。また一般に悪性腫瘍において新生された血管やリンパ管は形態や機能は異常をきたしており、腫瘍局所への抗癌薬の到達を困難にしていると考えられている。近年では irregular になった脈管を正常化することで、容易に癌細胞に抗癌薬を到達させようとする『vascular normalization』という概念が提唱されており、新規マーカーを同定することで口腔癌における vascular normalization therapy の標的と成り得る可能性も大いに期待される。

今回の研究では申請者らが新たに見出したこれらの口腔癌特異的な新規マーカーの詳細を解明することにより、新たな口腔癌の分子標的診断および副作用の少ない VEGF family 非依存的な口腔癌抗血管新生・リンパ管新生療法の可能性を検討したいと考えている。

3. 研究の方法

本研究でおこなった主な方法は下記の通りである

- マイクロアレイによる新規マーカー関連シグナルの網羅的検索
- 口腔癌検体を用いたタンパク発現解析
- 口腔癌検体を用いた遺伝子発現解析、マイクロ RNA 発現解析
- 口腔癌細胞株を用いた機能解析

4. 研究成果

(1) 申請者らが行った口腔癌における網羅的遺伝子発現解析により、多数の新規口腔癌関連遺伝子の候補が抽出されたが、高発現しているものの一つとして NEDD4 Binding Protein 2 Like 1 (N4BP2L1) を同定した。N4BP2L1 は鼻咽頭癌において高い発現を示すことが報告されている N4BP2 のホモログであるが、がんならびに正常組織における発現と役割、機能についてはよく分かっていない。そこで口腔癌における N4BP2L1 の機能について解析を行った。口腔癌細胞株において N4BP2L1 の発現は正常口腔粘膜と比較して有意に発現上昇していた。なお複数の口腔癌細胞株を用いたノックイン・ダウン実験、レポーターアッセイ等を行った結果、N4BP2L1 の発現は miR-448 により制御されていた。また N4BP2L1 は口腔癌の浸潤能を調節することを見出した。口腔癌検体を用いた発現解析では、リンパ節転移症例ほど N4BP2L1 が高発現していた。また N4BP2L1 と miR-448 の発現レベルは逆相関していた。さらに多変量解析により N4BP2L1 の発現は口腔癌の独立した予後不良因子となることが明らかとなった。以上より N4BP2L1 は口腔癌の進展を予測する分子マーカーとしての役割と同時に分子治療標的としての有用性が期待される。

(2) さらに脈管新生に関する新たな分子マーカーの候補として Storkhead Box 2 (STOX2) を同定した。STOX2 は脱落膜において発現していることが報告されているが、がんにおける機能は全く分かっていない。臨床検体を用いた発現解析において、STOX2 はタンパクレベル、遺伝子レベルともに口腔癌において高発現していた。臨床病理学的因子との統計解析において STOX2 の発現レベルはリンパ節転移とリンパ管・脈管新生数と有意に相関していた。STOX2 はメチル化により発現制御されるという報告があるが、口腔癌においては分泌タンパクである melanoma inhibitory activity (MIA) を介したパラクライン機構により発現調節され、さらに脈管新生を誘導する機能や 5-FU、シスプラチン、パクリタキセルといった抗がん剤に対する多剤耐性獲得能を有することが明らかとなった。以上より STOX2 は脈管新生を標的として新たな分子治療薬となるだけでなく、抗がん剤の奏功性を予測する有用な指標となる可能性が示唆される。

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8件)

Sasahira T, Kurihara M, Nakashima C, Kirita T, Kuniyasu H
LEM domain containing 1 promotes oral squamous cell carcinoma invasion and

endothelial transmigration 査読有
Br J Cancer 115(1):52-8, 2016
Sasahira T, Kurihara M, Nishiguchi Y,
Fujiwara R, **Kirita T**, **Kuniyasu H**
NEDD 4 binding protein 2-like 1
promotes cancer cell invasion in oral
squamous cell carcinoma 査読有
Virchows Archiv 469(2):163-72, 2016
Sasahira T, **Kirita T**, Nishiguchi Y,
Kurihara M, Nakashima C, Bosserhoff
AK, **Kuniyasu H**,
A comprehensive expression analysis of
the MIA gene family in malignancies:
MIA gene family members are novel,
useful markers of esophageal, lung, and
cervical squamous cell carcinoma 査読有
Oncotarget 7(21): 31137-52, 2016
Sasahira T, Nishiguchi Y, Fujiwara R,
Kurihara M, **Kirita T**, Bosserhoff AK,
Kuniyasu H
Storkhead Box 2 and melanoma
inhibitory activity promote oral
squamous cell carcinoma progression
査読有
Oncotarget 7(18):26751-64, 2016
Sasahira T, Kurihara M, Yamamoto K,
Ueda N, Nakashima C, Matsushima S,
Bhawal UK, **Kirita T**, **Kuniyasu H**
HuD promotes progression of oral
squamous cell carcinoma 査読有
Pathobiology 81(4): 206-214, 2014
Shimomura H, **Sasahira T**, Yamanaka Y,
Kurihara M, Imai Y, Tamaki S,
Yamakawa N, Shirone N, Hasegawa M,
Kuniyasu H, **Kirita T**
[18F]fluoro-2-deoxyglucose-positron
emission tomography for the assessment
of histopathological response after
preoperative chemoradiotherapy in
advanced oral squamous cell carcinoma
査読有
Int J Clin Oncol 20(2):308-16, 2014
Sasahira T, **Kirita T**, Yamamoto K, Ueda
N, Kurihara M, Matsushima S, Bhawal
UK, Bosserhoff AK, **Kuniyasu H**
Transport and Golgi organisation protein
1 is a novel tumour progressive factor in
oral squamous cell carcinoma 査読有
Eur J Cancer 50(12): 2142-51, 2014
Sasahira T, **Kirita T**, **Kuniyasu H**
Update of molecular pathobiology in oral
cancer: a review 査読有
Int J Clin Oncol 19(3): 431-6, 2014

[学会発表](計8件)

中嶋千恵、**桐田忠昭**、栗原 都、松島紗弥
子、パワール ウジャール、山本一彦、
笹平智則、**國安弘基**
口腔扁平上皮癌における malic enzyme 発

現の意義

第75回日本癌学会総会、横浜、2016.10.6-8
笹平智則、西口由希子、中嶋千恵、栗原 都、
桐田忠昭、**國安弘基**
STOX2 と MIA は口腔癌の進展を促進する
第75回日本癌学会総会、横浜、2016.10.6-8
中嶋千恵、**桐田忠昭**、栗原 都、山本一彦、
岩田直也、桂川広幸、**笹平智則**、**國安弘基**
口腔扁平上皮癌における malic enzyme の
発現
第74回日本癌学会総会、名古屋、
2015.10.8-10
笹平智則、栗原 都、パワール・ウジャール、
桐田忠昭、**國安弘基**
口腔扁平上皮癌における N4BP2L1 の役割
第104回日本病理学会総会、名古屋、
2015.4.30-5.2
松島紗弥子、周林艶、佐藤清哉、千原良友、
笹平智則、佐々木隆光、**國安弘基**
大腸癌・口腔癌におけるアンギオテンシン
2型受容体の意義
第73回日本癌学会総会、横浜、
2014.9.25-27
栗原 都、**笹平智則**、山本一彦、松島紗弥
子、**桐田忠昭**、**國安弘基**
口腔扁平上皮癌におけるピルビン酸キナ
ーゼ・アイソザイムの意義
第103回日本病理学会総会、広島、
2014.4.24-26
栗原 都、**笹平智則**、山本一彦、パワール・
ウジャール、**桐田忠昭**、**國安弘基**
口腔扁平上皮癌における MIA2 の役割
第103回日本病理学会総会、広島、
2014.4.24-26
笹平智則、栗原 都、パワール・ウジャール、
桐田忠昭、**國安弘基**
口腔癌における N4BP2L1 の発現
第103回日本病理学会総会、広島、
2014.4.24-26

[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：
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

笹平 智則 (SASAHIRA, Tomnori)
奈良県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：90405374

(2) 研究分担者

國安弘基 (KUNIYASU, Hiroki)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：00253055

(3) 連携研究者

桐田忠昭 (KIRITA, Tadaaki)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：70201465

(4) 研究協力者

山本一彦 (YAMAMOTO, Kazuhiko)
パワー・ウジャー (Bhawal, Ujjal)