

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10815

研究課題名(和文) 頭頸部扁平上皮癌におけるリゾフォスファチジン酸受容体の発現解析

研究課題名(英文) The expression levels of Lysophosphatidic acid receptors in head and neck squamous cell carcinoma.

研究代表者

又吉 宣(Matayoshi, Sen)

琉球大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60448587

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)：リゾフォスファチジン酸(LPA)は生体内に広く分布する生理活性物質で、癌細胞に関してはLPA刺激によって細胞増殖能や遊走能の亢進に働くことが知られている。LPA受容体はLPA1-6の6つのタイプが明らかになっているが、頭頸部癌における分布や発現量の差異に関してはよく分かっていない。今回頭頸部癌症例よりサンプリングを行い、LPA受容体、LPA産生酵素ATX、LPA分解酵素ACP6に関する発現量を調べる実験を行った。下咽頭癌に関してはLPA1発現量はLPA4の8倍多い結果であり、ATX発現量も喉頭癌、対照群と比べ4倍以上高い結果であることが分かった。

研究成果の概要(英文)：Lysophosphatidic acids(LPAs) have been implicated in the tumorigenesis of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). We investigated the mRNA expression levels of LPA receptors(LPA1-6), LPA producing enzyme(Autotaxin;ATX), and LPA degrading enzyme(ACP6) in HNSCC samples. The expression levels of LPA1 in hypopharyngeal carcinoma(HPC) was eight times higher than that of LPA4. Further more, HPC showed high expression level of ATX. Our data suggest that the difference of LPA1 and LPA4 expression may influences malignant behaviors of HNSCCs.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：リゾホスファチジン酸 LPA 頭頸部癌 Gタンパク共役受容体

1. 研究開始当初の背景

(1) 生理活性脂質 LPA とその産生酵素

リゾフォスファチジン酸 (LPA) は生体内に広く分布する生理活性脂質である。その作用は各種細胞の増殖、分化、細胞運動やアポトーシス制御を介して癌や動脈硬化をはじめとする種々の病態に関与することが明らかになってきている。LPA は血中に豊富に存在するリゾフォスファチジルコリンからオートタキシン Autotaxin(ATX)によって産生される。この ATX は元々、悪性黒色腫の運動性促進因子として知られていた酵素である。

(2) LPA の分解酵素

LPA の特異的分解酵素として acid phosphatase6(ACP6)が存在する。食道癌患者においてはACP6発現が優位に低下しているという報告があるが、頭頸部癌に対しての発現は不明である。

(3) LPA 受容体

LPA の受容体は生体内の様々な細胞膜上に7回膜貫通型受容体(GPCR)として存在し、LPA1~LPA6 の6つのアイソフォームの存在が知られている。ヒトにおいてLPA1は全身の各組織に広く発現しており、LPAシグナリングの主要な役割を担っていることが示唆され、LPA1はその下流でGi/PI3K/Racを介した経路により、多くの癌細胞において増殖能や遊走能の亢進といった作用を示すとされている(図1)。

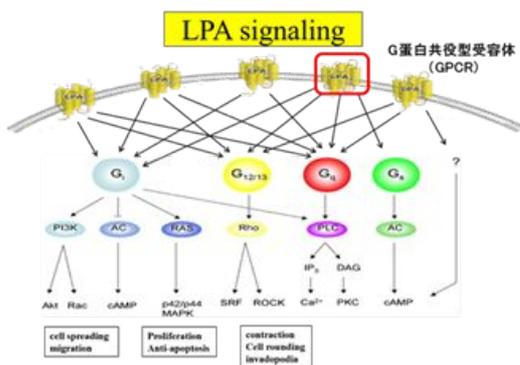


図1 LPA 受容体と下流のシグナリング

LPA1-3 はそれぞれ 50%の相同性を示し、EDG (endothelial differentiation gene) family を形成している。一方、LPA4-6 はこれら EDG family とは高い相同性を示さず、non-EDG family として認識されている。これら新規受容体を介したシグナリング経路に関しては報告が少なく不明な点が多い(図2)。

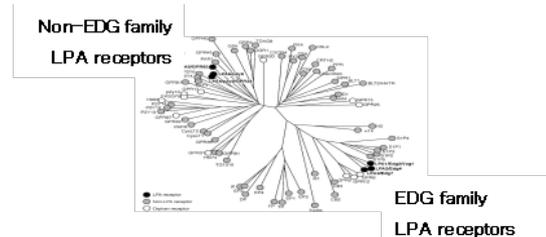


図2 LPA 受容体の系統樹

(4) LPA4 を介した作用

ヒト組織においてLPA4は卵巣に多く発現が認められるが頭頸部領域においてその発現様式は明らかでない。またラットにおいてnon-EDG familyであるLPA4を介したシグナリングはEDG familyであるLPA1を介したシグナリングに拮抗して細胞形態を変化させたり、ヒト間葉系幹細胞においては骨芽細胞への分化に関してLPA1とLPA4を介したシグナリングが拮抗する可能性が示唆されている。

(5) LPA4 遺伝子導入による頭頸部癌細胞の悪性形質改変

これまでの研究で SQ20B (ヒト喉頭癌)、Detroit562 細胞 (ヒト咽頭癌)、HEp-2 (ヒト喉頭癌) 細胞株について RT-PCR、real-time PCR で LPA1-6 発現量を確認し、LPA4 の発現が最も低い SQ20B において LPA に対する増殖能、遊走能の亢進がみられることを報告した。また SQ20B 細胞株に外来性 LPA4 遺伝子を導入した LPA4 過剰発現株を作成し、LPA4 過剰発現により LPA1 を介した増殖応答、遊走能亢進といった作用が減弱することを報告した。

2. 研究の目的

本研究の目的は頭頸部扁平上皮癌亜部位別での LPA1-6、ATX、ACP6 の発現様式を明らかにすることである。

3 . 研究の方法

頭頸部扁平上皮癌組織での LPA1-6 発現様式、ATX、ACP6 発現量の解析：
頭頸部扁平上皮癌患者から採取した凍結組織より mRNA 抽出、cDNA 作成を行い、RT-PCR、real-time PCR 法を用い LPA1-6、ATX、ACP6 に関する発現量の差異を明らかにする。

4 . 研究成果

下咽頭癌 43 例、喉頭癌 17 例、対照群 25 例についてサンプリングを行い、LPA 受容体、ATX、ACP6 の発現量について解析を行った。

(1)下咽頭癌において LPA1 の発現量は LPA4 と比べて 8 倍以上多い結果であった。一方、喉頭癌において LPA1 発現量は LPA 4 に比べ 1.4 倍多い結果であった。対象群に関しては LPA 4 の方が LPA1 より多い結果であった。

(2) LPA 産生酵素である ATX に関しては下咽頭癌が最も高い発現量を示した。

(3) LPA 分解酵素 ACP6 の発現量に関しては下咽頭癌が最も低い発現量を示し、対照群の 10 分の 1 程度の結果であった。

喉頭癌においては対照群の 7 分の 1 程度の発現量であった。

一般的に喉頭癌に比べ予後が悪いとされる下咽頭癌であるが LPA 受容体、特に LPA1 と LPA4 の発現量の差異、また ATL、ACP6 発現量の差異が悪性形質に大きく関与していることが示唆された。頭頸部癌において LPA 受容体発現量の差異に関して新たな知見が得られた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1 . Hirakawa H, Hanai N, Suzuki H, Nishikawa D, Matayoshi S, Hasegawa Y,

Suzuki M.

Prognostic importance of pathological response to neoadjuvant chemotherapy followed by definitive surgery in advanced oral squamous cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2017 Jul 13;1-9(査読有り)

2. Maeda H, Yamashiro T, Yamashita Y, Hirakawa H, Agena S, Uehara T, Matayoshi S, Suzuki M.

Lymphoepithelial carcinoma in parotid gland related to EBV infection: A case report. *Auris Nasus Larynx.* 2017 Jan 27. pii: S0385-8146(査読有り)

2016

3. Yamashita Y, Uehara T, Hasegawa M, Deng Z, Matayoshi S, Kiyuna A, Kondo S, Maeda H, Ganaha A, Suzuki M.

Squamous cell carcinoma antigen as a diagnostic marker of nasal inverted papilloma.

Am J Rhinol Allergy. 2016 Mar-Apr;30(2):122-7(査読有り)

2015

4. Yamashita Y, Hasegawa M, Deng Z, Maeda H, Kondo S, Kyuna A, Matayoshi S, Agena S, Uehara T, Kouzaki H, Shimizu T, Ikegami T, Ganaha A, Suzuki M.

Human papillomavirus infection and immunohistochemical expression of cell cycle proteins pRb, p53, and p16(INK4a) in sinonasal diseases. *Infect Agent Cancer.* 2015 Aug 4;10:23.(査読有り)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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〕

なし

6．研究組織

(1)研究代表者

又吉 宣（MATAYOSHI Sen）

琉球大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60448587