

令和 2 年 9 月 16 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11912

研究課題名(和文) 口腔癌におけるANGPTL4の機能解析と治療標的としての評価

研究課題名(英文) Evaluation as a functional analysis and the treatment target of ANGPTL4 in oral cancer

研究代表者

田中 拓也 (Takuya, Tanaka)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：30631767

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：Angiopoietin-like protein 4 (ANGPTL4) は脂質代謝や血管新生因子としての働きが指摘されている。最近、癌の遠隔転移における癌細胞の血管内皮細胞通過の過程にANGPTL4 が関与している可能性が報告された。我々はANGPTL4 が口腔の扁平上皮癌の進展にも影響していると考えた。ANGPTL4の癌運動性や浸潤亢進、増殖亢進等を調べ癌促進相乗作用を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト口腔扁平上皮癌(臨床検体、培養細胞株)が高頻度にC5a/ANGPTL4を発現していることが示され、ヒト癌でのアナフィラトキシン C5a/ANGPTL4系の存在と癌増殖、運動性、浸潤亢進、転移、さらに患者予後への関与が明らかになる。C5a発現とこの受容体に依存したANGPTL4による癌促進作用、およびこの作用に関与するサイトカイン等の産生が示される。C5a/ANGPTL4系への抗C5aR抗体の癌抑制効果が示され、これら抗体の癌治療薬としての有効性が提示される。

研究成果の概要(英文)：The work as fat metabolism and the angiogenesis factor is noted Angiopoietin-like protein 4 (ANGPTL4).The possibility that ANGPTL4 was involved in a process of the vascular endothelial cells passage of the cancer cell in the distant metastasis of the cancer was reported recently.We thought that ANGPTL4 influenced extension of oral squamous cell carcinoma.We examined cancer mobility of ANGPTL4 and invasive sthenia, proliferative sthenia, and the like and determined tumor promotion potentiative action.

研究分野：口腔癌

キーワード：肺転移 ANGPTL4

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症により癌微小環境内で産生される TNF- α (腫瘍壊死因子)は、近年、転移環境の整備に関する腫瘍促進因子であることが明らかになっている (Malik ST, et al: Eur J Cancer(1990)26:1031-1034)。また、Angiopoietin-like protein 4 (ANGPTL4) は Angiopoietin の構造類似蛋白で、脂質代謝や血管新生因子としての働きが指摘されているが、レセプターは見つかっておらず、その機能にも不明な点が多い。ANGPTL4 は低酸素で誘導される分子であり、腫瘍の微小環境との類似性を考慮すると、悪性腫瘍においてもなんらかの機能を果たしていることが示唆され、既に前立腺癌、肝臓癌、乳癌等での報告もある。最近、癌の遠隔転移における癌細胞の血管内皮細胞通過の過程に ANGPTL4 が関与している可能性が報告された。脈管侵襲およびそれに続く遠隔転移、再発は、食道癌に高率に起こる現象であり、予後不良の大きな原因となっていることから、我々は ANGPTL4 が口腔扁平上皮癌の進展に影響している可能性を考えた。一方肥満の脂肪組織において慢性炎症を引き起こし、その結果メタボリックシンドロームや糖尿病の誘因で知られている Angiopoietin-like protein 2 (ANGPTL2) が、低酸素や低栄養などのがん組織内微小環境によってがん細胞そのものから分泌されるようになり、がん細胞から分泌された ANGPTL2 は、他の癌種で①がん細胞の転移に重要な血管新生を増加させること、②がん細胞自身に作用しがん細胞の運動性を増強させ、その結果がん細胞の浸潤や転移が促進されることを見出されている。また、がん細胞における ANGPTL2 の発現レベルの検討は、がん再発の予測の指標になりうる可能性も言われており、口腔扁平上皮癌でも今後の研究成果によりがん細胞から分泌される ANGPTL2 が、腫瘍血管新生を増加させ、さらにがん細胞の運動性を増強させることにより、がんの浸潤・転移促進の原因の一つとなっていることが解明されることか急務であると考えた。

ANGPTL2 と ANGPTL4 はそれぞれの受容体と結合することでその機能を発揮することが示された(Nature 277:203-207, 2002)が、ANGPTL2・ANGPTL4 の口腔癌への作用は全く調べられていない。これらの NF- κ B を介したオートクリンによる恒常的活性によるリンパ節転移・遠隔転移の関与が示唆される。以上より、ANGPTL2/ANGPTL4 環境下での癌運動性や浸潤亢進作用等に対する関与を想定して、癌細胞や癌関連維芽細胞(CAF)の間葉系マーカーと幹細胞マーカーを調べ、培養細胞や動物実験により癌関連維芽細胞(CAF)の機能を解析してこの受容体の癌治療への応用性を提示することを計画した。

2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌を用いて高転移株を樹立し、その転移株を用いて癌細胞の NF- κ B の恒常的活性化が、浸潤・転移亢進作用を促進し癌転移や生存率低下との相関から予後マーカーとなる可能性を示した。今回申請者は、転移株のマイクロアレイで発現が上昇していた ANGPT4 と ANGPT2 に着目し、口腔扁平上皮癌の患者予後との関係を解析する。また、ヒト癌や癌細胞株での発現、ANGPT4・ANGPT2 の癌細胞増殖・浸潤や転移等の作用および受容体との作用の関係を研究し、ANGPT4・ANGPT2 を標的とする癌治療法の開発をめざす。

3. 研究の方法

患者および株化口腔扁平上皮癌細胞の ANGPTL2・ANGPTL4 の発現を免疫組織染色で各々証明する。

ANGPTL2・ANGPTL4 の発現と患者の臨床病理データとの関連性を統計学的に明らかにする。

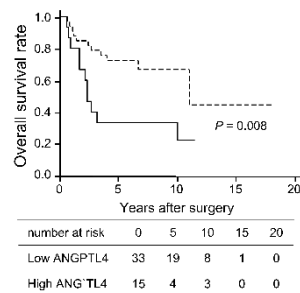
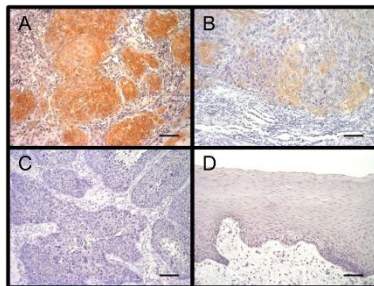
TNF- の癌細胞に対する作用を ANGPTL2・ANGPTL4 を強発現あるいは欠失させた癌細胞株を使っての形態変化・運動性・増殖・浸潤を細胞培養系と動物実験の両方で解析する。

癌細胞と線維芽細胞の共培養系で TNF- 刺激による ANGPTL2・ANGPTL4 の相乗作用を調べる。

上記の実験系において、ANGPTL2 と ANGPTL4 拮抗剤の癌増殖・浸潤への抑制効果を調べ、ANGPTL2 と ANGPTL4 を標的とした癌治療法の有効性を検討する

4. 研究成果

免疫染色 ANGPTL4 発現している舌癌は、肺転移を起こし、および予後不良の結果を得た



リンパ節転移・肺転移は ANGPTL4 の発現と臨床統計で確認した。

Table 1. Relationship between cancer-cell ANGPTL4 expression and patient clinicopathological parameters in tongue cancer (TC)

Parameters	ANGPTL4 expression		P	
	Low	High		
Patients (n)	33	15		
Average age (years)	61.0 ± 15.4	61.8 ± 14.3	0.860*	
Gender	Male	16	11	0.129 [†]
	Female	17	4	
Histological grade	Well	30	13	0.713 [†]
	Moderate	2	2	
	Poor	1	0	
Lymph node metastasis	+	6	7	0.077 [†]
	-	27	8	
Lung metastasis	+	12	11	0.029 [†]
	-	21	4	

P values were calculated using * unpaired Student's t-test or [†]Fisher's exact test.

未実施

未実施

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中拓也
2. 発表標題 Angiopoietin-like protein 4 (Angptl4) expression is a poor prognosis factor of OSCC.
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	尾木 秀直 (Ogi Hidenao) (10315426)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	
研究分担者	今村 隆寿 (Imamura Ryuji) (20176499)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・准教授 (17401)	