

令和 3 年 6 月 30 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16897

研究課題名(和文) 上咽頭癌におけるリゾフォスファチジン酸受容体5の発現解析

研究課題名(英文) The expression levels of Lysophosphatidylcholine acid receptors in patients with nasopharyngeal carcinoma

研究代表者

又吉 宣(Matayoshi, Sen)

琉球大学・医学部・委託非常勤講師

研究者番号：60448587

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：リゾフォスファチジン酸(LPA)は生体内で多様な働きを持つ生理活性脂質であり、癌細胞に対するLPA刺激が、細胞増殖能や遊走能の亢進に作用することが知られている。LPA受容体にはLPA1-6の6つのサブタイプがあることが知られている。頭頸部癌での分布や発現量の差異については不明な点が多い。また古典的に知られているLPA1-3に対し、2000年以降新規に発見されたLPA4-6に関しては遺伝的系譜が異なるとされその作用についても不明な点が多い。今回上咽頭癌症のLPA受容体解析を行い、臨床像との比較を行った。放射線治療抵抗性の症例においてLPA1/LPA5比が高い可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで頭頸部癌におけるLPAに関する研究は少なく、上咽頭癌についての報告はほとんどない。各種頭頸部癌に対してLPA受容体の発現分布や発現様式について調べることは予後予測因子の発見や創薬のターゲットとなり得る。

研究成果の概要(英文)：Lysophosphatidic acid (LPA) is a bioactive lipid having various functions in the human body, and it is known that LPA stimulation to cancer cells acts to enhance cell proliferation ability and migration ability. LPA receptors are known to have six subtypes of LPA1-6. There are many unclear points about the difference in distribution and expression level in head and neck cancer. In addition, compared to the classically known LPA1-3, the genetic genealogy of LPA4-6 newly discovered after 2000 is said to be different, and there are many unclear points about its action. We investigated the mRNA expression levels of LPA receptors(LPA1-6) in patients with nasopharyngeal carcinoma. It was suggested that the LPA1 / LPA5 ratio may be high in radiation-resistant cases.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：リゾフォスファチジン酸 LPA 頭頸部癌

1. 研究開始当初の背景

(1) 生理活性脂質 LPA とその受容体、および産生酵素

リゾフォスファチジン酸（以下 LPA）は生体膜を構成する成分としてヒト体内に恒常的に広く存在し、様々な生理活性を持つ物質として注目されている。これまで報告されている LPA の生理的、病的な働きは多岐にわたるが、癌細胞の悪性形質発現に関する報告では増殖能、浸潤能、抗アポトーシス能、血管形成などが挙げられる。また、ヒト血液中における LPA 濃度は $10 \mu\text{M}$ 程度と推察され、卵巣癌や子宮癌患者の腹水中には高濃度の LPA が存在し、腹膜中皮へのがん転移を促進すると推定されている。

LPA の受容体は細胞膜上に存在する G 蛋白共役型受容体（GPCR）として LPA1-6 のサブタイプが知られている(図 1)。

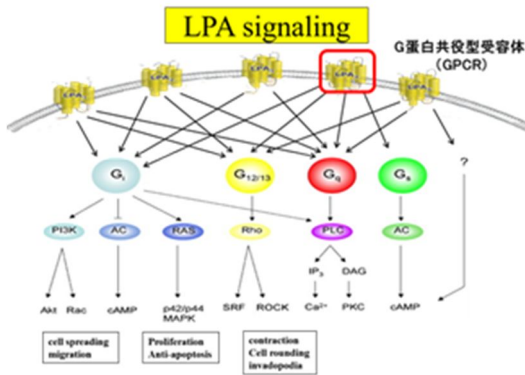


図 1 LPA 受容体と下流のシグナリング

LPA1-3 は古典的 LPA 受容体(Endothelial Differentiation family : EDG family)として知られていたが、2003 年に遺伝的系譜を異にする新規受容体 LPA4 が、そして 2006 年に LPA5 の存在が明らかになった(図 2)。LPA4-6 は Non-EDG family として認識されているが、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。

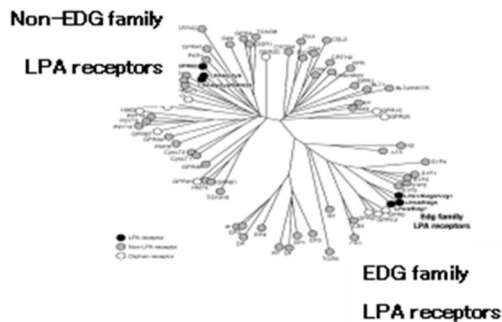


図 2 LPA 受容体系統樹

(2) LPA 受容体の生理機能解析

LPA 受容体の生理機能に関しては古典的 LPA 受容体 LPA1-3 に関する報告が多い。一方、新

規受容体である LPA4-6 に関する報告は少なく、その生理的作用に関しては不明な点が多い。

我々はこれまでの実験で、LPA4 の持つ作用に着目し、頭頸部癌細胞株を用い LPA4 過剰発現株を作製した。この株を用いて LPA1 を介したシグナリングに LPA4 を介するシグナリングが拮抗する可能性を見出した (Matayoshi et al, Int J Oncol, 2013)。

(3) LPA5 を介した作用

LPA5 はラット腸管上皮細胞の管腔側膜に存在し液体吸収に寄与する働きが知られていた。その後、LPA5 に選択性の高いアゴニストとしてオクタデセニルリン酸が、アンタゴニストとして H2L 5987411、H2L 5765834 の存在が明らかとなった。また血小板凝集作用を示すことなどが知られているが、悪性腫瘍に関する報告は明らかでなかった。2014 年に Lee らはいくつかの上咽頭癌細胞株において LPA5 発現が低い事、EB ウイルス感染によって誘導される膜蛋白 LMP2A が LPA5 発現を抑制することを報告した (Lee et al, L Pathol, 2014)。

2. 研究の目的

本研究の目的は上咽頭癌患者から採取した凍結組織を用いて LPA1-6 の発現解析を行うことである。またこれらの発現様式と性、年齢、TNM 分類、ステージ、組織型 (WHO type I)、化学放射線治療への反応、5 年生存率、重複発生の有無といった臨床データとの相関について調べることである。

3. 研究の方法

上咽頭癌患者から採取した上咽頭凍結組織を用いて mRNA を抽出し、cDNA 作成を行い、RT-PCR、real-time PCR による解析を行った。対象として非上咽頭癌患者からサンプリングした上咽頭凍結組織についても同様の手法で LPA 受容体の発現解析を行った。

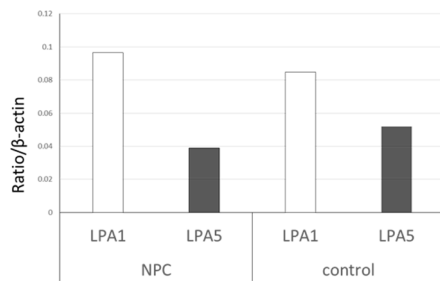
4. 研究成果

上咽頭癌患者 31 例、上咽頭正常組織 13 例についてサンプリングを行い、LPA 受容体発現量について解析を行った。平均年齢はそれぞれ 59.7 歳、60.5 歳であった。

(1) 上咽頭癌 31 例中 I・II 期が 5 例、III・IV 期が 26 例と多くが進行癌症例であった。

このため上咽頭癌患者全体の 5 年生存率は 41.4%と低い値であった。

(2) 上咽頭癌 (NPC) の LPA1 発現量は正常組織 (control 群) と比較しやや多い結果であった。これに対して LPA5 の発現量は control 群の方がやや多い結果であった。両群とも LPA5 に比し、LPA1 の発現量が多い結果であった (図 3)。



(図 3)

(3) LPA1 と LPA5 の発現量を比較すると、上咽頭癌においては LPA1 の発現量は LPA5 と比べ 3.6 倍多い結果であった (LPA1/LPA5=3.6)。これに対し control 群では 1.9 倍 LPA1 発現量が多い結果であった (LPA1/LPA5=1.9)。

(4) 上咽頭癌治療後に完全寛解 (CR) となった例と現病死 (DOD) となった例に分けて、LPA1、LPA5 それぞれ発現量の差を調べたが共に両群間での発現量の差は認めなかった。

(5) 上咽頭癌治療後 CR (CR 例) となった例と現病死のうち原発巣の増悪により死亡した例 (T 死例) を比較すると、CR 例では LPA1/LPA5 比 1.9 なのに対し、T 死例では LPA1/LPA5 比 4.5 であった。LPA5 の発現量が相対的に低い症例が放射線治療を中心とした治療に反応が悪い傾向にあることが伺えた。

(6) 上咽頭癌症例の中で組織型の違い (角化型、非角化型) による LPA1、LPA5 発現量の差は認めなかった。

解剖学的に手術治療が困難で多くの症例に対し放射線治療を中心とした治療が行われている上咽頭癌であるが、原発巣のコントロールが治療予後を大きく左右する。今回の研究結果では放射線治療に感受性を示す群と放射線治療抵抗性を示す群間で LPA1/LPA5 比に差を認める可能性が示唆された。上咽頭癌症例において LPA1-6 発現の差異を調べた報告はこれまでになく、新しい知見が得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Maeda H, Yamashiro T, Yamashita Y, Hirakawa H, Agena S, Uehara T, Matayoshi S, Suzuki M.	4. 巻 Feb45.
2. 論文標題 Lymphoepithelial carcinoma in parotid gland related to EBV infection: a case report.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 170-174
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.anl.2016.12.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 真栄田 裕行, 又吉 宣, 安慶名 信也, 上里 迅, 金城 秀俊, 鈴木 幹男	4. 巻 44
2. 論文標題 固有鼻腔原発の平滑筋肉腫治療の一症例	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 頭頸部癌	6. 最初と最後の頁 280-284
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5981/jjhnc.44.280	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------