

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19169

研究課題名(和文) 口腔癌の脂質代謝を介した悪性形質獲得機構の解明と新規治療標的の創出

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of acquisition of malignant traits through lipid metabolism in oral cancer and derivation of novel therapeutic targets

研究代表者

中元 雅史 (Nakamoto, Masafumi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・医員

研究者番号：90779175

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)：口腔癌におけるANGPTL4の代謝関連の液性因子としての役割を調べるために、糖尿病と非糖尿病の舌癌患者の組織を用いて抗ANGPTL4抗体で免疫染色をおこなった。その結果、糖尿病を有する舌癌患者の組織では、腫瘍細胞周囲の間質にANGPTL4が存在する傾向にあった。ANGPTL4の脂質代謝を介した悪性形質獲得の機構への関与を調べる為に、Ca9-22細胞株でRNA干渉法でANGPTL4のノックダウンを行い、ANGPTL4ノックダウン細胞の上清を用いて脂肪酸合成酵素、遊離脂肪酸、活性酸素およびAcyl-CoAとAcyl CoA synthetaseの活性について調べたが、有意な変化は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌患者の中には、糖尿病などの何らかの代謝異常を抱えている者も多く、実際に糖尿病の罹患状態と癌の悪性度に相関が見られることもわかっている。このような状況を踏まえて、細胞外環境も包含した治療戦略に基づく治療薬の創出は極めて重要である。

研究成果の概要(英文)：To investigate the role of ANGPTL4 as a metabolism-related humoral factor in oral cancer, tissues from diabetic and non-diabetic tongue cancer patients were immunostained with anti-ANGPTL4 antibody. To investigate the involvement of ANGPTL4 in the mechanism of malignant trait acquisition via lipid metabolism, ANGPTL4 knockdown was performed in the Ca9-22 cell line by RNA interference and ANGPTL4 knockdown cell supernatants were examined for fatty acid synthase, free fatty acids, reactive oxygen species, and Acyl-CoA and Acyl CoA synthetase activities, but no significant changes were observed.

研究分野：エビジェネティクス

キーワード：ANGPTL4 脂質代謝 悪性形質

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

## 1. 研究開始当初の背景

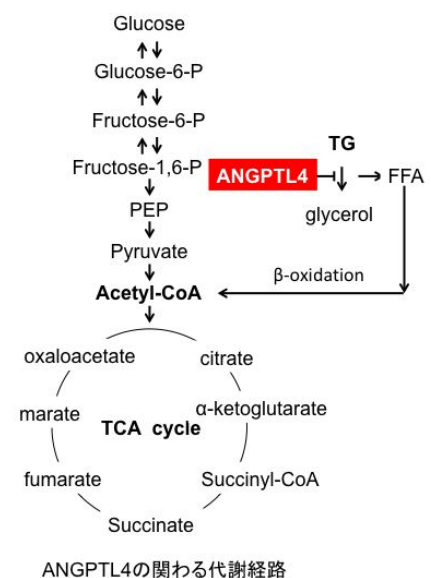
口腔扁平上皮癌 (Oral squamous cell carcinoma: OSCC) は口腔領域の悪性腫瘍の約 80% を占める。口腔扁平上皮癌に対する治療は、外科手術、放射線療法、化学療法の 3 つが挙げられるが、その中でも外科手術が一番根治性が高いとされている。しかしながら、口腔領域は感覚と運動を司る臓器であり、一旦手術となれば機能面および審美性の面も含めて QOL の低下は免れない。また、高齢化社会に伴い年齢や既往歴により外科手術の適応外となる場合も多く、外科手術に代わる低侵襲で根治性の高い新規の治療法の創出が望まれる。

近年の癌研究の発展で、癌細胞自体のゲノム異常以外にもエピゲノム異常や癌の不均一性を生み出す細胞外環境が癌の悪性形質獲得に重要な役割を果たしていることが注目されている。癌患者の中には、糖尿病などの何らかの代謝異常を抱えている者も多く、実際に糖尿病の罹患状態と癌の悪性度に相関が見られることもわかっている。このような状況を踏まえて、細胞外環境も包含した治療戦略に基づく治療薬の創出は極めて重要である。

## 2. 研究の目的

Warburg 効果に代表されるように、癌細胞は好氣的条件下でも敢えて解糖系を亢進させてエネルギーを獲得していることがわかっており、近年のメタボロミクス解析などにより癌細胞での解糖系を中心とした代謝制御機構が明らかとなりつつある。解糖系の亢進以外にも、癌組織では脂質合成が亢進していることが報告されており (Rassart et al. Int Journal of Oncology, 2014) 逆に 酸化経路は抑制されている。遊離脂肪酸は、脂質のトリグリセリドが加水分解されて生成されるが、この遊離脂肪酸は癌細胞だけでなく、癌細胞周囲の微小環境を司る脂肪細胞などからも癌細胞に取り込まれて癌細胞の増殖に寄与していることが報告されている (Guillaumond et al. Oncogenesis, 2016) 。ANGPTL4 の高発現は、複数の癌腫において癌の進行、浸潤・転移、血管新生への関与が報告されている。一方で、ANGPTL4 はトリグリセリドを遊離脂肪酸とグリセロールへと加水分解する酵素であるリポプロテインリパーゼの二量体化を阻害することで脂質蓄積に働くことが報告されている。しかしながら、ANGPTL4 が脂質代謝を介してどのように癌の悪性形質獲得に寄与しているかは不明である。大変興味深いことに、ANGPTL4 の発現は、低酸素状態や低栄養状態などの細胞外環境の状態と密接にリンクして制御されている。本研究は、ANGPTL4 を介した脂質代謝と転写のクロストークによる癌の生存戦略の本質に迫ることを目的とする。

癌の生存戦略を脂質代謝の観点から捉えようとする本研究は先駆的で独自性に富んだものであり、OSCC に限らず他の領域の癌研究の基盤になると考えられる。本研究の対象である OSCC における代謝プロファイルと臨床学的特徴を解析することは、OSCC の新たな病態解明、新規診断法、そして新たな治療標的と治療法の創出および個別化治療の実現へ



発展すると考えられ、口腔癌治療に大きなパラダイムシフトをもたらす得ると考えられる。また本研究は、OSCC やそれ以外の癌研究の発展に寄与するだけでなく、幅広い生命現象へ関与している脂質代謝のメカニズムを解明することで、様々な疾患の診断・治療に貢献するものと考えられる。

### 3. 研究の方法

#### 口腔癌における ANGPTL4 の代謝関連の液性因子としての役割の解明

糖尿病と非糖尿病の舌癌患者の組織を用いて抗 ANGPTL4 抗体での免疫染色をおこなう。

#### ANGPTL4 の液性因子としての悪性形質への関与のメカニズムの解明

舌癌の肺転移症例での血清ANGPTL4の濃度を調べる。

#### ANGPTL4 の脂質代謝を介した悪性形質獲得の機構の解明

a) Ca9-22細胞株で、RNA干渉法でANGPTL4のノックダウンを確認

b) ANGPTL4ノックダウン細胞の上清を用いて脂肪酸合成酵素、遊離脂肪酸および Acyl-CoA synthaseの活性について調べる。

### 4 . 研究成果

ANGPTL4 は分泌タンパクであり、N 末端と C 末端で役割が異なり、C 末端が腫瘍の進展に関与しているとされている。そこで、C 末端を認識する抗体にて糖尿病の既往のある舌癌患者と非糖尿病の舌癌患者の組織の免疫染色をおこなった。糖尿病を有する舌癌患者の組織では、腫瘍細胞周囲の間質に ANGPTL4 が発現する傾向にあった( 図1)。この腫瘍細胞周囲の ANGPTL4 が腫瘍由来のものか他臓器由来のものかはわからないが、腫瘍細胞が ANGPTL4 の機能を介して

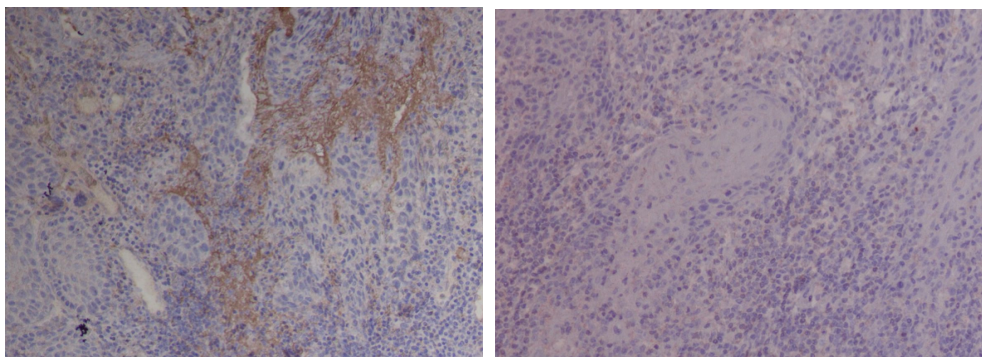


図1. 糖尿病患者と非糖尿病患者の ANGPTL4 発現 (左; 糖尿病患者 右; 非糖尿病患者)

次に、ANGPTL4の液性因子としての役割を調べるために、舌癌の肺転移症例での血清 ANGPTL4 の濃度を調べたところ、肺転移症例では血清ANGPTL4の濃度が高い傾向にあった。このことは、ANGPTL4が分泌された後に血行性に癌細胞の転移を促進している可能性を示唆していると思われた。

そこで、ANGPTL4の機能解析を目的として、Ca9-22細胞株でRNAi干渉法を用いてANGPTL4のノックダウンを行い、脂質代謝関連の酵素活性を調べることにした。まずCa9-22細胞株でのANGPTL4のノックダウンを確認した( 図2)。

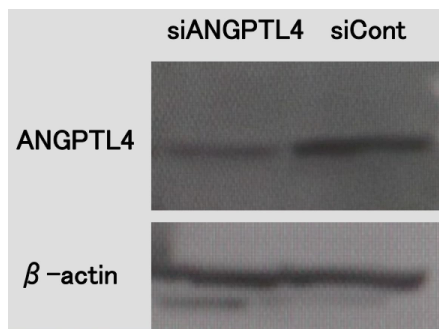


図 2. ANGPTL4 のノックダウン

次に、ANGPTL4 の脂質代謝を介した悪性形質獲得機構への関与を調べる為に、この ANGPTL4 のノックダウン細胞株の培養上清を用いて脂肪酸合成酵素、遊離脂肪酸、および Acyl-CoA synthase の活性について調べた。培養上清を用いた結果ではコントロールと ANGPTL4 ノックダウンでの明らかな変化は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)       | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|-------|---------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 中山 秀樹<br><br>(Nakayama Hideki)  |                       |    |
| 研究協力者 | 廣末 晃之<br><br>(Hirosue Akiyuki)  |                       |    |
| 研究協力者 | 山本 達郎<br><br>(Yamamoto Tatsuru) |                       |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |