

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18223

研究課題名(和文) 卵巣癌におけるANGPTL2を標的とした新たな治療戦略の開発

研究課題名(英文) Development of new therapeutic strategies targeting ANGPTL2 in ovarian cancer

研究代表者

竹下 優子 (TAKESHITA, YUKO)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：40838645

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、癌腫における発癌や癌の浸潤、転移に関与する血管新生因子であるアンジオポエチン様因子2(Angiopoietin like protein 2: ANGPTL2)に着目し、卵巣癌の腹膜播種における同分子の機能の解明を目的とした。今回われわれは、卵巣癌のin vivoマウス腹膜播種モデルを作成した。一連の解析の結果から、腫瘍に発現するANGPTL2はin vivoにおいて腹膜播種を抑制することが示された。以上より、卵巣癌におけるANGPTL2の発現制御は、卵巣癌の腹膜播種制御法の開発に応用できる可能性を有している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣癌におけるANGPTL2の発現を抑制することは、卵巣癌の腹膜播種病巣の形成の制御法の開発に応用できる可能性を有している。しかしながら、今後、ヒト卵巣癌組織あるいは腹水中でのANGPTL2の発現検討など、より詳細で網羅的な解析を行うことで、卵巣癌におけるANGPTL2の発現意義のさらなる解明が必要である。

研究成果の概要(英文)：We focused on angiopoietin like protein 2 (ANGPTL2), an angiogenic factor involved in carcinogenesis, tumor invasion, and metastasis in carcinomas, to elucidate the function of this molecule in peritoneal dissemination of ovarian cancer.

In this study, we generated an in vivo mouse model of peritoneal dissemination of ovarian cancer. The results of a series of analyses showed that tumor-expressed ANGPTL2 suppresses peritoneal metastasis in vivo.

In conclusion, regulation of ANGPTL2 expression in ovarian cancer has the potential to be applied to the development of methods to control peritoneal dissemination of ovarian cancer.

研究分野：卵巣癌

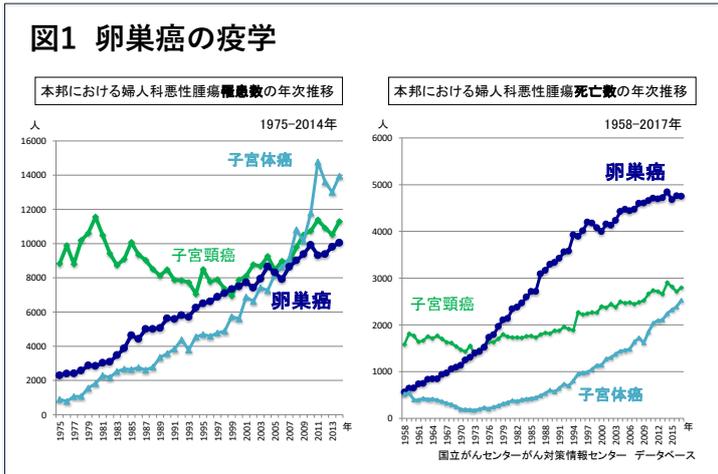
キーワード：卵巣癌 腹膜播種 ANGPTL2 細胞接着

### 1. 研究開始当初の背景

日本における卵巣癌は、罹患数・死亡数ともに増加傾向を示し、婦人科癌死亡の第1位となっている。近年では、毎年約10,000人が卵巣癌に罹患し、約5,000人が死亡している(図1)。

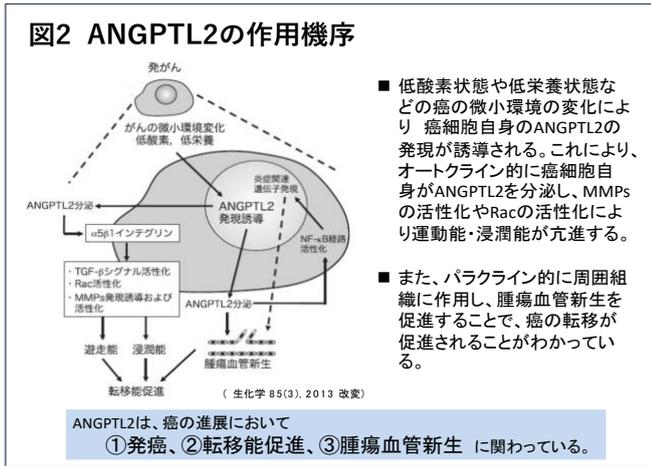
卵巣癌における特徴的な転移様式は腹膜播種であるため、これら腹膜播種に関する分子メカニズムを解明することは非常に重要である。血管新生因子であるアンジオポエチン様因子2 (Angiopoietin like protein 2: ANGPTL2) は、様々な癌腫において、発癌や腫瘍血管新生、癌の浸潤・転移の促進に関与していることが明らかにされている。

そのメカニズムとしては、低酸素状態や低栄養状態などの癌の微小環境の変化によって、癌細胞自身のANGPTL2の発現が誘導されることが知られている。これによって、オートクライン的に癌細胞自身がANGPTL2を分泌し、MMPsの活性化やRacの活性化が惹起されることが示されている(図2)。2008年、ヒト卵巣癌組織において、ANGPTL2高発現群は早期症例では予後良好、進行期症例では予後不良であると報告されたが、卵巣癌におけるANGPTL2の具体的な機能に関しては示されていない。



### 2. 研究の目的

今回われわれは、卵巣癌の腹膜播種におけるANGPTL2の機能的役割について、特に卵巣癌細胞と腹膜播種病巣の形成における詳細な分子機構を明らかにすることを目的とした。

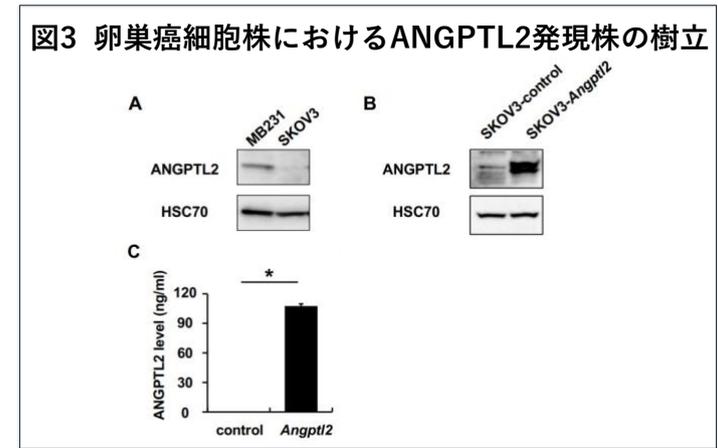


### 3. 研究の方法

今回われわれは、まずはじめに、卵巣癌細胞株SKOV3を用いて、ANGPTL2発現株の樹立を試みた。また、マウス腹膜播種モデルを用いたin vivo実験による網羅的な解析を計画した。さらに、ANGPTL2とインテグリンの発現、細胞接着の解析を行った。

### 4. 研究成果

はじめにわれわれは、卵巣癌細胞株SKOV3を用いて、ANGPTL2過剰発現株の樹立に成功した(図3)。さらに、この過剰発現した癌細胞をマウス腹腔内に投与した腹膜播種モデルを作成し、網羅的な解析を行った結果、ANGPTL2発現株投与群では播種病巣はほとんど認められず、コントロール群と比較して、腫瘍サイズ・結節数ともに有



意な差が認められた (図 4)。加えて、Kaplan-Meier 法によって生存期間について解析した結果、腫瘍に発現する ANGPTL2 は、マウス腹膜播種モデルにおける生存率の延長に寄与することが示された (図 5)。これらの結果から、腫瘍組織に発現する ANGPTL2 は in vivo において卵巣癌の腹膜播種を抑制することが明らかにされた。

さらに、腹膜播種形成の重要な因子である細胞接着の

観点から基礎解析を行った結果、ANGPTL2 発現細胞では、インテグリン  $\alpha 5 \beta 1$ 、 $\alpha 6$ 、および  $\beta 4$  の発現低下が認められた。また、接着実験では、ANGPTL2 発現によって Laminin への細胞接着は低下していたが、Fibronectin への接着は亢進していた。

また、細胞接着以外の他の要因についても基礎解析を行った。ANGPTL2 発現株とコントロール株で、通常培養下での細胞増殖能には有意差は認められなかった。一方、MMP 活性や EMT に関わる遺伝子発現にも差が認められなかった。さらに、血管新生関連因子についても遺伝子発現に明らかな差は認められなかった。そこで、今回、ANGPTL2 発現細胞におけるアノイキス抵抗性の検討を行った。その結果、ANGPTL2 発現細胞では、寒天培地培養下における死細胞の割合が著しく上昇していることを確認した。また、その理由として、Bcl-2 発現低下による可能性を見出した。

図4 マウス腹膜播種モデルにおける腫瘍形成の検討

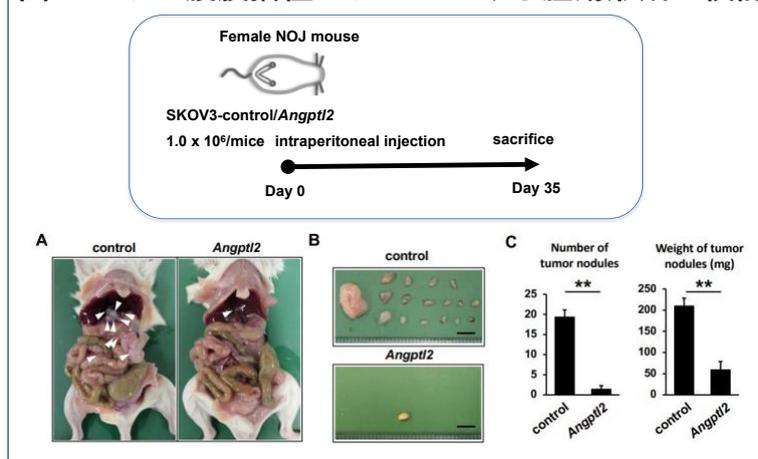
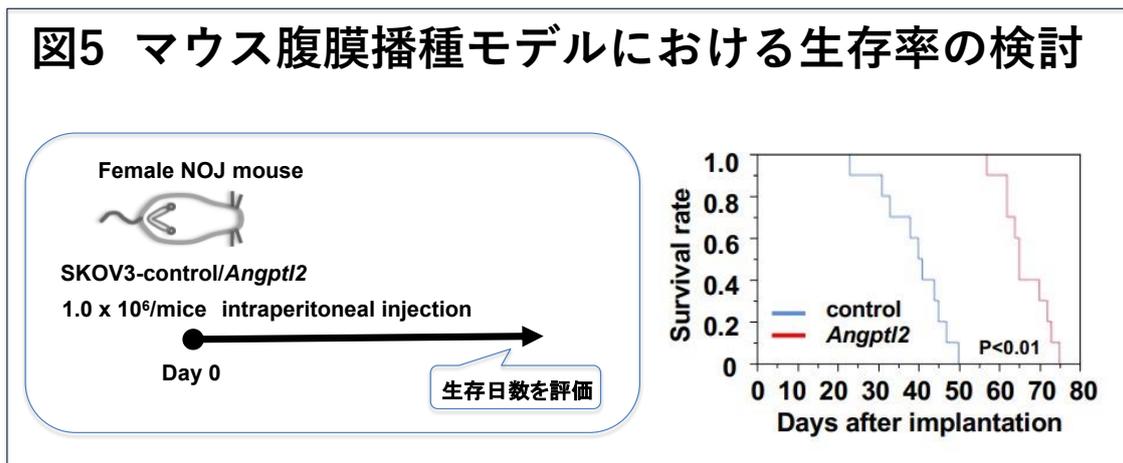


図5 マウス腹膜播種モデルにおける生存率の検討



このことから、アノイキス抵抗性の違いが、マウスモデルにおける腹膜播種の違いを反映しているのではないかと判断された。以上に示した一連の解析の結果から、卵巣癌における ANGPTL2 の発現制御は、卵巣癌の腹膜播種制御法の開発に応用できる可能性を有していると考えられる。

今後の展望として、卵巣癌における ANGPTL2 の発現制御は、卵巣癌の腹膜播種制御法の開発に応用できる可能性を有している。しかしながら、卵巣癌同所移植マウスモデルでの検討やヒト卵巣癌組織あるいは腹水中での ANGPTL2 の発現検討などにより、卵巣癌における ANGPTL2 の発現意義のさらなる解明が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takeshita Y, Motohara T, Kadomatsu T, Doi T, Obayashi K, Oike Y, Katabuchi H, Endo M.	4. 巻 561
2. 論文標題 Angiopoietin-like protein 2 decreases peritoneal metastasis of ovarian cancer cells by suppressing anoikis resistance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 26-32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.05.008.	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
---------	---------