

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792166

研究課題名(和文) 口腔癌における低酸素非依存的代謝活性亢進機構の解明

研究課題名(英文) Verification of hypoxia independent activation of glucose metabolism in oral cancer

## 研究代表者

宮腰 昌明 (MIYAKOSHI, MASAOKI)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：90614933

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)：癌細胞は非常に高い増殖活性を示し、低酸素環境下におけるHIF1活性化による糖代謝亢進が深く関与していると理解されてきた。しかし、口腔癌症例でのFDG-PETとFMISO-PETの対比から高度の糖代謝活性を低酸素状態単独では説明しえない症例が存在する。FDG-PET、FMISO-PET撮影口腔癌症例につき、2000個を超える所属リンパ節標本を検証。転移病巣におけるHIF1、Ki67、GLUT1の発現をそれぞれ検討した。全項目で転移巣に特異的な高発現を確認。HIF1は腫瘍中の低酸素に非依存的な発現パターンを示し、部分的だが糖トランスporter発現に関与、増殖活性との非常に強い関連が考えられた。

研究成果の概要(英文)：Cancer cells have extremely high growth activity. Previously, it was understood that the activity is supported by activated HIF1 via glucose metabolic mechanism under tumor specific hypoxic condition. But, clinical study comparing FDG-PET to FMISO-PET showed the cases that had highly activated metabolic capacity even without hypoxia. In this study, we stained HIF1, Ki67, GLUT1 in all the metastatic lymph nodes from over 2000 of operative enucleated cervical lymph nodes. All three factors expressed abundantly in tumor specific manor. HIF1 expression pattern was unrelated to oxygen gradient from blood vessels. These results suggest that tumor specific hyper-activation of HIF1 is partially regulate glucose transporter expression and has more direct relation to cancer cell's special growth activity.

研究分野：口腔癌

キーワード：低酸素 糖代謝 口腔癌

### 1. 研究開始当初の背景

癌細胞は非常に高い増殖活性を示し、その必要エネルギーは高度に亢進した代謝活性により維持されている。この機構には腫瘍特異的な低酸素環境下における転写因子 HIF1 活性化による糖代謝亢進が深く関与していると理解されている (Nat Rev Cancer. 2008 Sep;8(9):705-13.)。

口腔癌を含む多くの癌において病変中の HIF1 発現は患者の生命予後と密接に関連し、高発現症例では高率な再発・転移により有意に予後が不良となる。(Histopathology 2011 Jun;58(7):1136-47.)

HIF1 は低酸素環境下において活性化する遺伝子として知られ、発現量により転写活性が制御される。活性化した HIF1 はその下流遺伝子である細胞膜表面に分布するグルコーストランスポーターの GLUT1 発現を誘導し、腫瘍細胞において組織液中あるいは血中からのブドウ糖取り込みを増加させることでエネルギー確保に重要な役割を果たす。(Nat Rev Cancer. 2008 Sep;8(9):705-13.)

しかし、臨床において非常に高い代謝活性を示す腫瘍組織において糖質の取り込み活性を利用した FDG-PET では高率に陽性所見が得られるのに対し低酸素領域を反映する FMISO-PET においては、陽性所見の検出率は低くとどまっている。この乖離に関し、高度の代謝活性を低酸素状態単独では説明しえない症例が存在するが、そのメカニズムは解明されていない。

### 2. 研究の目的

癌組織における低酸素非依存的な代謝活性化機構の解明を最終目的とする。まず臨床口腔癌検体において低酸素非依存的な HIF1 活性化を明らかにし、代謝活性制御機構における生物学的メカニズムを解明する。

### 3. 研究の方法

組織中酸素分圧の測定によりヒト口腔癌病巣における低酸素環境の絶対的評価を行う。FDG-PET、FMISO-PET の画像所見を組織中酸素分圧と対比して評価する。同時に、GLUT1、HIF1 発現を病理組織学的に検討する。組織中酸素分圧以外の項目については過去に蓄積した症例についても同様に検討を加える。

### 4. 研究成果

#### (成果 1)

口腔癌 1 次症例における廓清組織中から核出された、2000 個を超えるリンパ節臨床検体をもとに、口腔癌由来転移陽性リンパ節をすべて免疫組織学的に検索した。

ほぼ全ての転移巣において HIF1 が陽性であ

り、術前検査において FMISO-PET 陰性検体も含まれており、低酸素検出限界以下の通常レベルの組織中酸素分圧下における HIF1 活性化が確認された。

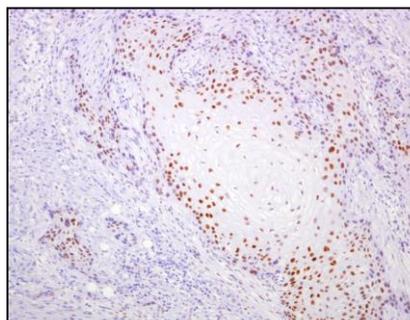
#### (成果 2)

同じくリンパ節転移巣における HIF1 発現に関して免疫組織学的に検討を加えた。

各検体間で染色強度に関しては差異が観察されたが、形成された転移巣における HIF1 発現には局在性が確認でき、転移巣基底側から一層内側に配列する腫瘍細胞層に強発現していた。

この発現パターンはこれまで HIF1 発現をコントロールするとされてきた周囲血管からの酸素供給バランス崩壊に起因する組織中低酸素環境とはむしろ無関係で腫瘍細胞特異的かつ病巣進展あるいは構成組織構造との関連が強く示唆された。

口腔癌転移巣における HIF1 発現

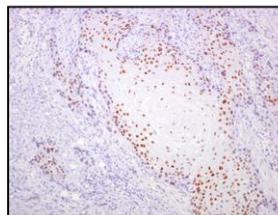


茶色: HIF1

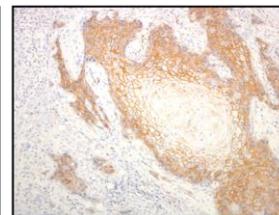
#### (成果 3)

さらにリンパ節転移巣中で観察された HIF1 高発現とその生物学的意義について評価するため、連続切片を用いて病理組織学的検討を加えた。

口腔癌転移巣連続切片における HIF1 および GLUT1 発現の比較

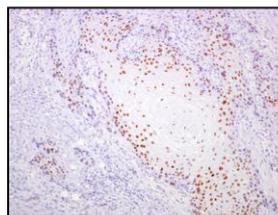


茶色: HIF1

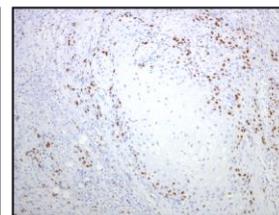


茶色: GLUT1

口腔癌転移巣連続切片における HIF1 および Ki67 発現の比較



茶色: HIF1



茶色: Ki67

HIF1 の発現パターンはその下流遺伝子として GLUT1 発現との関連が示唆された。ただし、GLUT1 はより腫瘍特異的で腫瘍蜂巣中にびまん性の発現パターンを示し、HIF1 による制御は部分的と考えられた。逆に、転移巣中の細胞増殖活性を Ki67 免疫染色にて評価したところ、HIF1 発現と非常に類似した陽性細胞配列を示し、HIF1 活性化による生物学的意義として、活発な病巣形成に参与している腫瘍細胞の増殖活性に直接的な影響を与えることが考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Hayase S, Sasaki Y, Matsubara T, Seo D, Miyakoshi M, Murata T, Ozaki T, Kakudo K, Kumamoto K, Ylaya K, Cheng SY, Thorgeirsson SS, Hewitt SM, Ward JM, Kimura S.  
Expression of stanniocalcin 1 in thyroid side population cells and thyroid cancer cells.  
**Thyroid**. 2015 Apr;25(4):425-36.  
doi: 10.1089/thy.2014.0464. 査読有
2. Sato J, Kitagawa Y, Yamazaki Y, Hata H, Asaka T, Miyakoshi M, Okamoto S, Shiga T, Shindoh M, Kuge Y, Tamaki N.  
Advantage of FMISO-PET over FDG-PET for predicting histological response to preoperative chemotherapy in patients with oral squamous cell carcinoma.  
**Eur J Nucl Med Mol Imaging**. 2014 Nov;41(11):2031-41.  
doi: 10.1007/s00259-014-2810-y. 査読有
3. Miyakoshi M, Yamamoto M, Tanaka H, Ogawa K.  
Serine 727 phosphorylation of STAT3: an early change in mouse hepatocarcinogenesis induced by neonatal treatment with diethylnitrosamine.  
**Mol Carcinog**. 2014 Jan;53(1):67-76.  
doi: 10.1002/mc.21949. 査読有
4. Okamoto M, Hayase S, Miyakoshi M, Murata T, Kimura S.  
Stem cell antigen 1-positive mesenchymal cells are the origin of follicular cells during thyroid regeneration.  
**PLoS One**. 2013 Nov 21;8(11):e80801.  
doi: 10.1371/journal.pone.0080801. 査読有

[学会発表] (計 8 件)

1. Miyakoshi M, Yoshikawa K, Asaka T, Hata H, Sato J, Sato A, Kitagawa Y  
Methotrexate associated Oral diseases. Lymphoproliferative disorder and severe stomatitis.  
AAOMS 96th Annual Meeting, Scientific Sessions and Exhibition  
2014 年 09 月 08 日～2014 年 09 月 13 日  
Hawaii Convention Center (Honolulu, USA)
2. 清水 六花、宮腰 昌明、大賀 則孝、吉川 和人、浅香 卓哉、秦 浩信、佐藤 明、北川 善政  
上顎腫瘍を発症した白血病の一例  
第 40 回日本口腔外科学会北日本支部学術集会  
2014 年 6 月 21 日～2014 年 6 月 22 日  
にぎわい交流館 AU (秋田県秋田市)
3. Miyakoshi M, Murai C, Abe T, Hata H, Sato A, Yamazaki Y, Kitagawa Y, Shiga T, Tamaki N  
Preoperative detection of Neck lymph node metastasis using FDG-PET/CT  
FRONTIERS IN ORAL MEDICINE ORLANDO 2014  
2014 年 04 月 09 日～2014 年 04 月 12 日  
Hyatt Regency Grand Cypress (Orlando, USA)
4. Miyakoshi M, Yanagiya M, Sato J, Hata H, Sato C, Yamazaki Y, Kitagawa Y  
Concurrence of MTX-LPD and BRONJ in patient with rheumatoid arthritis  
FRONTIERS IN ORAL MEDICINE ORLANDO 2014  
2014 年 04 月 09 日～2014 年 04 月 12 日  
Hyatt Regency Grand Cypress (Orlando, USA)
5. 宮腰 昌明、村井 知佳、阿部 貴洋、秦 浩信、佐藤 明、山崎 裕、北川 善政  
FDG-PET/CT を用いた口腔癌術前頸部リンパ節転移検出に関する検討  
第 53 回日本核医学会学術総会  
2013 年 11 月 08 日～2013 年 11 月 10 日  
福岡国際会議場 (福岡県福岡市)
6. 宮腰 昌明、村井 知佳、阿部 貴洋、秦 浩信、佐藤 明、山崎 裕、北川 善政  
FDG-PET/CT を用いた口腔癌術前頸部リンパ節転移検出に関する検討  
第 58 回 (公社) 日本口腔外科学会総会・学術大会  
2013 年 10 月 11 日～2013 年 10 月 13 日  
福岡国際会議場 (福岡県福岡市)
7. Miyakoshi M, Murai C, Abe T, Hata H, Sato A, Yamazaki Y, Kitagawa Y, Shiga T, Tamaki N

Value and limitation of preoperative lymph node staging using FDG PET/CT in patients with oral cancer: Comparison with histological findings

SNM 2012 Annual Meeting

2012年06月09日～2012年06月13日

Miami Beach Convention Center (Miami Beach, USA)

8. 宮腰 昌明、村井 知佳、阿部 貴洋、秦浩信、佐藤 明、山崎 裕、北川 善政  
FDG-PET/CT を用いた口腔癌術前頸部リンパ節転移検出に関する検討  
第66回NPO法人日本口腔科学会学術集会  
2012年05月17日～2012年05月18日  
広島国際会議場（広島県広島市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮腰 昌明 (MIYAKOSHI MASAAKI)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：90614933

(2) 研究分担者

なし