

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 10 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463049

研究課題名(和文) 口腔扁平上皮癌における遠隔転移マーカーの同定及び解析

研究課題名(英文) Distinction and analysis of the distant metastasis marker in oral squamous cell carcinoma.

研究代表者

田中 拓也 (TANAKA, TAKUYA)

熊本大学・医学部附属病院・診療助手

研究者番号：30631767

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平上皮癌株から樹立した高転移株の解析により、自己産生TNF- α (腫瘍壊死因子)刺激を介したNF- κ Bの恒常的活性化による浸潤・転移の亢進を解明し、癌転移や患者生存率低下との相関からNF- κ B活性化が予後マーカーとなる可能性を示した。今回、肺転移した高転移株で発現上昇率が最も高かったAngiopoietin like-4(ANGPTL4)に着目し、口腔扁平上皮癌での発現と患者予後との関係を解析した。

研究成果の概要(英文)：Background: Angptl4 is a critical mediator and promotes trans-endothelial migration of cancer cells. We found a marked increase of Angptl4 mRNA in tongue cancer cells that metastasized into the lung (Tanaka et al, Int. J. Oncol. 2016). Thus, we investigated a relationship between tongue cancer cell Angptl4 expression and clinicopathological parameters of the patients. Methods: Immunohistochemical staining for Angptl4 was performed for tongue cancer tissues from patients who had radical surgery but not pre-operative therapies. Twenty patients with metastasis and 20 patients without metastasis were enrolled. Results: By Kaplan-Meier method, Angptl4-positive patients showed significantly shorter overall survival and recurrence-free survival than Angptl4-negative patients. Conclusion: Angptl4 is likely associated with tongue cancer progression and its expression of the cancer cells may be predictive of poor prognosis of the patients. Thus, Angptl4 is a possible therapeutic target.

研究分野：口腔癌転移マーカー

キーワード：転移 Angptl4

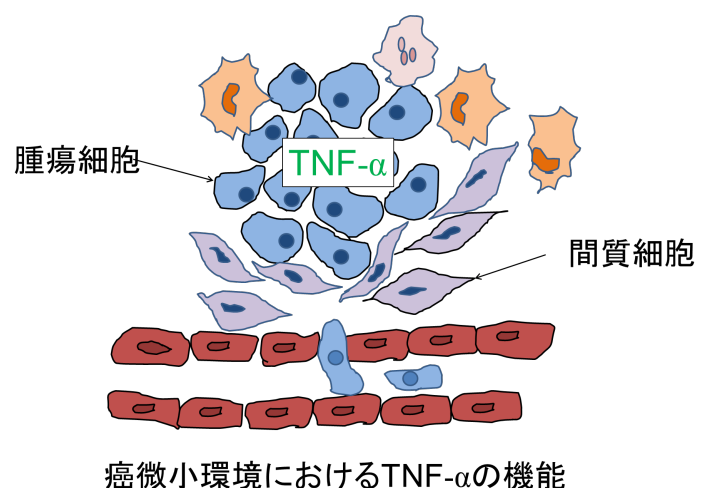
1. 研究開始当初の背景

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 (図 1)。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、他の癌種でがん細胞の転移に重要な血管新生を増加させること、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。

2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌株から樹立した高転移株 (図 2) の解析により、自己産生 TNF- α (腫瘍壊死因子) 刺激を介した NF- κ B の恒常的活性化による浸潤・転移の亢進を解明し、癌転移や患者生存率低下との相関から NF- κ B 活性化が予後マーカーとなる可能性を示した。今回、肺転移した高転移株で発現上昇率が最も高かった Angiopoietin like-4 (ANGPTL4) に着目し、口腔扁平上皮癌での発現と患者予後との関係を解析する。また、ANGPTL4 の癌細胞株での発現、癌細胞増殖・浸潤や転移等の作用および癌が発現する受容体との関係を NF- κ B 活性化を含めて解析して ANGPTL4 の癌促進因子としての機能を明らかにし、ANGPTL4 を標的とした抗体や遺伝子抑制による癌治療法の開発をめざす。



癌微小環境におけるTNF- α の機能

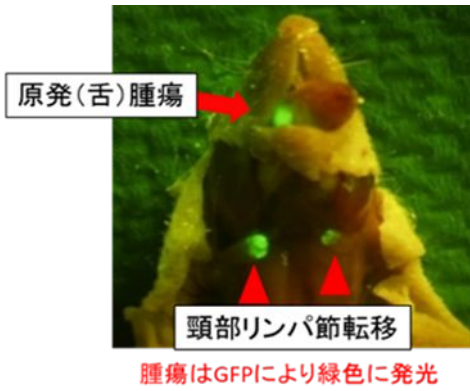
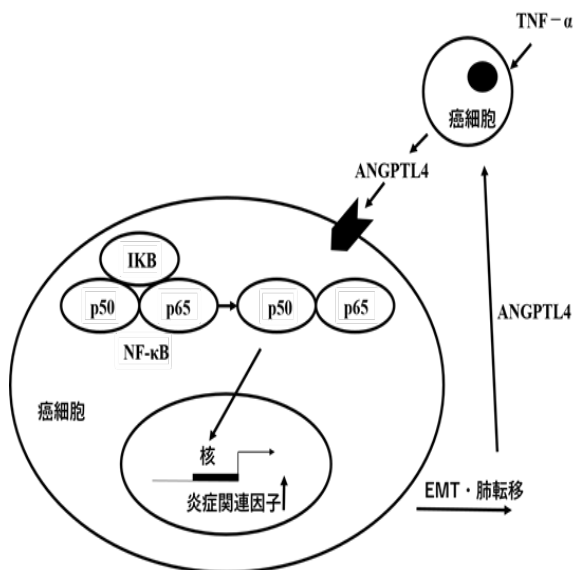
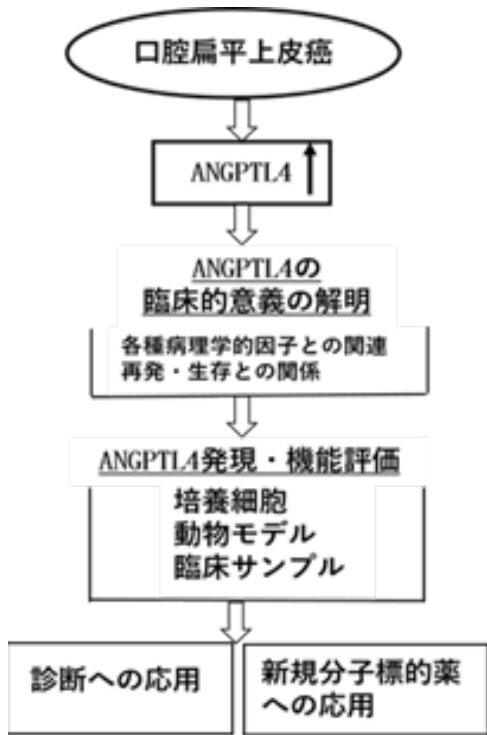


図 2



3. 研究の方法

口腔扁平上皮癌患者の組織検体を用いて肺転移をした予後不良の患者の ANGPTL4 の発現を免疫組織染色と *flow cytometry*, *immunoblotting* で各々証明する。

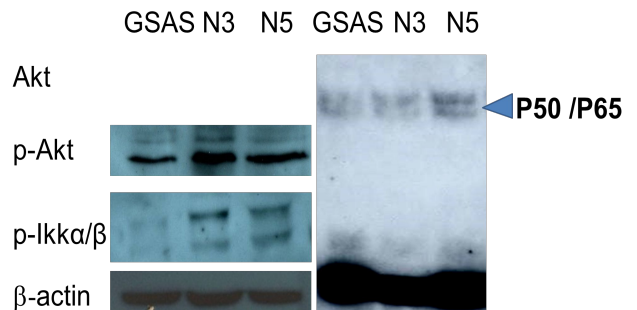
ANGPTL4 の発現と患者の臨床病理データとの関連性を統計学的に明らかにする。ANGPTL4 を強発現あるいは欠失させた癌細胞株を使って TNF- α 刺激による口腔扁平上皮癌細胞の運動性・増殖・浸潤亢進を細胞培養系と動物実験で解析する。

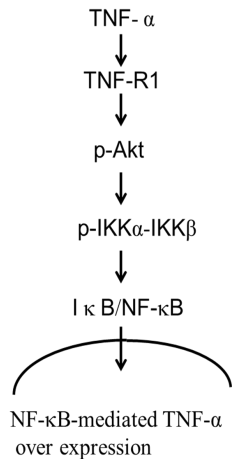
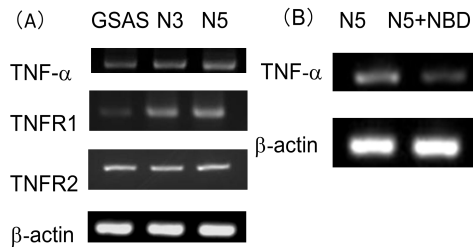
癌細胞に対する TNF- α と ANGPTL4 及び NF- κ B の相乗作用を調べる。

上記の実験系において、ANGPTL4 拮抗剤の癌増殖・浸潤への抑制効果を調べ、ANGPTL4 を標的とした癌治療法の有効性を検討するクレベルで解析を行う。

4. 研究成果

口腔扁平上皮癌患者の検体を用いた免疫染色において ANGPTL4 は、肺転移を有する患者の方が、転移を有しない患者と比較すると有意に発現上昇をみとめた。また、EMSA において転移株の方が NF- κ B の発現上昇をみとめ下流の ANGPTL4 の活性化の可能性が示唆された。さらに NF- κ B の上流の分子である PI(3)K, P-Akt, P-Ikk α , P-Ikk β のタンパクの発現上昇をウエスタンブロットで確認した。また、TNF- α -TNF-R1 の mRNA の上昇をみとめオートクラインループによる NF- κ B の恒常的な活性が起こっている可能性が考えられ、ANGPTL4 の発現上昇も引き起こされていることが示唆された。





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 1 件)

Tanaka, T., Imamura, T., Yoneda, M., Irie, A., Ogi, H., Nagata, M., Yoshida, R., Fukuma, D., Kawahara, K., Shinohara, M., & Nakayama, H.: Enhancement of active MMP release and invasive activity of lymph node metastatic tongue cancer cells by elevated signaling via the TNF-α-TNFR1-NF-κB pathway and a possible involvement of angiopoietin-like 4 in lung metastasis. **Int. J. Oncol.** 49: 1377-1384, 2016.

[学会発表](計 2 件)

第 33 回日本口腔腫瘍学会

田中拓也 高転移性口腔扁平上皮癌は TNF-α の高発現によって高浸潤能を獲得している 2015 年 1 月 30 日奈良県新公会堂

第 75 回日本癌学会学術総会

Highly metastatic oral squamous carcinoma with autocrine of TNF-α acquire high invasion ability.

田中拓也 2016 年 10 月 7 日パシフィコ横浜

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

田中拓也 (TANAKA, Takuya)
熊本大学・医学部附属病院・診療助手
研究者番号: 30631767

(2)研究分担者

尾木秀直 (HIDENAO, Ogi)
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教
研究者番号: 1031546

(3)連携研究者

篠原正憲 (MASANORI, Shinohara)
熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師
研究者番号: 90117127

(4)研究協力者

()

