



報道機関各位

熊本大学

がんの転移抑制へ期待

**がんの転移能獲得機構の解明と転移促進因子を  
不活性化する酵素の発見**

熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）の尾池雄一教授、門松毅助教、小田切陽樹医師（大学院生）らは、がん発症から浸潤・転移へと病態が進展する過程の中で、がん細胞が転移能を獲得する機構の一つとして、がん浸潤・転移を促進させるタンパク質であるアンジオポエチン様因子2（ANGPTL2）のがん病態進展過程における活性化機構を解明し、さらにANGPTL2を不活性化させる分解酵素を発見しました。新たな抗がん転移薬の開発に繋がるものと期待されます。

がんは世界規模で増加の一途をたどっており、がんの罹患率、死亡率の増加は社会的な問題となっています。特にがんの浸潤・転移はがん死亡の直接的な原因となるため、がんの浸潤・転移に関わるメカニズムの解明は急務となっています。がんの原発巣（発がん部位の組織）内では、がん細胞の急速な増殖に伴い、がん細胞の成長にとって不可欠な酸素や栄養が不足するといったがん組織内の環境変化が生じます。がん細胞は、その環境変化に応答し、高い浸潤能や転移能を獲得し、その結果としてがんの浸潤・転移が進み、がんが進展すると考えられています。しかし、そのメカニズムについては不明な点が多く残されていました。

尾池教授（JSPS/内閣府 最先端次世代研究開発支援（NEXT）プログラム 研究者、JST 戦略的創造研究推進事業 CREST研究「代表」者）らは、これまでの研究において、分泌タンパク質であるアンジオポエチン様タンパク質2（ANGPTL2）が、肺がんや乳がんの転移を促進することを明らかにしてきましたが、今回、骨の悪性腫瘍で最も頻度が高い骨肉腫においても骨肉腫細胞から産生・分泌されるANGPTL2が、骨肉腫の肺転移を促進することを明らかにしました。さらに、がん組織内では、遺伝子の不活性化に関わるDNAメチル化という現象によって不活性化されていた骨肉腫細胞のANGPTL2遺伝子が、低酸素、低栄養といったがん組織内の環境の変化に伴い脱メチル化され活性化されることを見出しました。ANGPTL2遺伝子が活性化した結果、骨肉腫細胞はANGPTL2タンパク質を分泌するようになり、分泌されたANGPTL2タンパク質は、がん組織内の環境を好転化（がん細胞への栄養及び酸素を補給）するための腫瘍血管新生促進作用に加え、骨肉腫細胞自身に作用し、骨肉腫細胞から分泌されるマトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）と呼ばれる組織破壊に関わるタンパク質分解酵素を活性化することで、隣接する正常組織への浸潤やがん転移に重要なステップである腫瘍血管内への侵入を促進

することを明らかにしました。

さらに今回、尾池教授らは、ANGPTL2がTLL1というタンパク分解酵素によって切断されること、切断されたANGPTL2は、がん転移を促進する機能を失っており、ANGPTL2は切断によって不活性化されることを見出しました。また、骨肉腫患者の腫瘍組織では、ANGPTL2遺伝子の活性化レベルが高いのに対し、TLL1遺伝子の活性化レベルは非常に低いことも見出しており、TLL1遺伝子の活性化レベルを増強することが、骨肉腫の転移抑制に繋がる可能性が考えられました。

ANGPTL2は、骨肉腫のみならず、肺がんや乳がんのがん細胞の浸潤能を増強することから、がん転移を促進することから、TLL1によるANGPTL2の切断を促進することが、がん転移に対する治療法となる可能性が考えられ、今後、新たな抗がん転移薬の開発につながるものと期待されます。

本研究成果は、2014年1月21日（米国東部時間）に米国科学雑誌「Science Signaling」の電子版で公開されます。

本研究成果は、以下の事業・研究課題によって得られました。

内閣府 最先端次世代研究開発支援（NEXT）プログラム

研究課題名：「生活習慣病とがんの共通分子病態解明による健康長寿社会実現を目指した基盤研究」

研究者：尾池雄一（熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）・教授）

研究実施場所：熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）分子遺伝学分野

研究期間：平成22～25年度

科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業 CREST 研究領域：「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」

研究課題名：「組織修復に基づく恒常性維持機構の変容による生活習慣病の病態解明と制御」

研究者：尾池雄一（熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）・教授）

研究実施場所：熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）分子遺伝学分野

研究期間：平成25～30年度

日本学術振興会 科学研究費助成事業 若手研究(B)

研究課題名：「癌や生活習慣病の発症・進展に関与するANGPTL2発現のエピゲノム制御機構の解明」

研究者：門松毅（熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）・助教）

研究実施場所：熊本大学大学院生命科学研究部（医学系）分子遺伝学分野

研究期間：平成25～26年度

文部科学省 次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム

「次世代がん研究戦略推進プロジェクト」「革新的がん医療シーズ育成グループ」 領域：「がん微小環境を標的とした革新的治療法の実現」

研究課題名：「がん発症・進展における慢性炎症病態解明と新規治療法開発」

研究者：遠藤元誉(熊本大学大学院生命科学研究部(医学系)・助教)

研究実施場所：熊本大学大学院生命科学研究部(医学系)分子遺伝学分野

研究期間：平成23～25年度

## <研究の背景と経緯>

我が国における死因の第1位はがんであり、その割合は今後益々増加することが予想され、がんの発症・進展メカニズムを解明し、有効な診断・治療法を開発することは急務となっています。がんの原発巣の組織内では、がん細胞の増殖に伴い酸素や栄養が不足する（低酸素および低栄養）など、がん組織内の環境の変化が生じることで、がん細胞が高い浸潤能や転移能を獲得し、がん病態が進展すると考えられています。しかし、がん組織内の環境の変化によってがん細胞が高い転移能を獲得するメカニズムについては不明な点が多く残されており、そのメカニズム解明が、がん転移に対する新たな治療法を確立する上で重要であると考えられます。

## <研究の内容>

尾池教授らは、これまでの研究から、アンジオポエチン様タンパク質2（Angiopoietin-like protein 2: ANGPTL2）<sup>注1)</sup>の過剰な作用が、糖尿病、動脈硬化性疾患、がんなどの生活習慣病の発症や進展に関わることを明らかにしてきました。なかでも、がんの病態においては、がん発症の感受性を高める（2011年 Cancer Research誌に報告）だけでなく、がん細胞から分泌されたANGPTL2が、がん細胞自身に作用し、がん細胞の運動性を高めることにより、ヒトの肺がんや乳がんの病態において、がん浸潤・転移を促進する因子として機能していることを明らかにしました（2012年Cancer Research誌に報告）。今回、骨の悪性腫瘍のうち最も発症頻度が高い原発性の骨腫瘍である骨肉腫における研究を行い、以下のような事を明らかにしました。

- 1) ヒト骨肉腫細胞をマウスの脛骨骨髓内に移植すると、DNAメチル化<sup>注2)</sup>によって不活性化されていたANGPTL2遺伝子が、低酸素や低栄養といったがん組織内の環境の変化によって脱メチル化されることでその遺伝子発現が誘導されることが明らかとなりました（図1）。  
→ **がん細胞が成長の過程で、浸潤能や転移能を獲得するメカニズムの一因を解明。**
- 2) ANGPTL2遺伝子発現を抑制した骨肉腫細胞をマウスに移植して経時的に肺転移を解析したところ、ANGPTL2遺伝子発現を抑制した骨肉腫細胞株では肺転移が減少し、生存期間の延長が認められました（図2）。  
→ **ANGPTL2の機能抑制が骨肉腫の肺転移抑制に繋がることを解明。  
抗転移薬開発に繋がる期待。**
- 3) ANGPTL2は組織破壊を行うマトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）<sup>注3)</sup>と呼ばれるタンパク質分解酵素を活性化させることで、骨肉腫細胞が周囲の正常組織へ浸潤する能力（浸潤能）を増強することを明らかにしました。（図3）。さらに、骨肉腫細胞から分泌されたANGPTL2は、腫瘍組織内の血管新生や骨肉腫細胞の腫瘍血管内への侵入といったがん転

移りに重要なステップを促進することも明らかにしました(図3)。

→ **ANGPTL2による骨肉腫の肺転移促進メカニズムを解明。**

- 4) ANGPTL2タンパク質が切断されること、全長型のANGPTL2タンパク質を過剰に産生する骨肉腫細胞を移植したマウスは、生存期間が短縮するのに対し、切断されたANGPTL2タンパク質を過剰に産生する骨肉腫細胞では、マウスの生存期間の短縮が認められないことを見出し、切断されたANGPTL2タンパク質は、がんの進展を促進する機能を失っており、ANGPTL2は切断によって不活性化されることを明らかにしました(図4)。

→ **ANGPTL2を治療標的とした抗転移薬の開発戦略につながる知見の発見。**

- 5) ANGPTL2がTLL1<sup>注4)</sup>というタンパク分解酵素によって切断されること、骨肉腫患者の腫瘍組織では、ANGPTL2遺伝子の発現量が高いのに対し、TLL1遺伝子の発現量は非常に低いことを明らかにしました(図5)。

→ **ANGPTL2を治療標的とした抗転移薬の開発戦略につながる知見の発見。**

- 6) 今回の研究から、腫瘍組織内の環境の変化によって骨肉腫細胞のANGPTL2遺伝子がDNAの脱メチル化により活性化され、その結果、骨肉腫細胞から分泌されるようになったANGPTL2タンパク質が、骨肉腫細胞自身の浸潤能や腫瘍血管内への侵入を促進することで、転移を促進することを明らかにしました。さらに、TLL1がANGPTL2を切断することでその転移促進能を不活化することを見出しました(図6)。

### <今後の展開>

近年、骨肉腫の予後に関しては、術前の化学療法の施行によって5年間生存率も以前と比べて70%程度に改善されていますが、転移が認められる場合、依然として予後が悪いのが実状です。骨肉腫では肺への転移が主要な死亡原因となっていることから、骨肉腫の肺転移に対する治療法の確立が重要な課題となっています。骨肉腫では、TLL1遺伝子の発現量が低下していることから、TLL1遺伝子の発現を増強し、ANGPTL2の切断を促進することが、骨肉腫の転移抑制に繋がる可能性が考えられ、今後、新たな抗転移薬の開発につながるものと期待されます。また、ANGPTL2は、肺がんや乳がんの転移を促進することから、これらのがんの転移に対しても今回見出された新たな治療戦略の応用が期待されます。

<参考図>

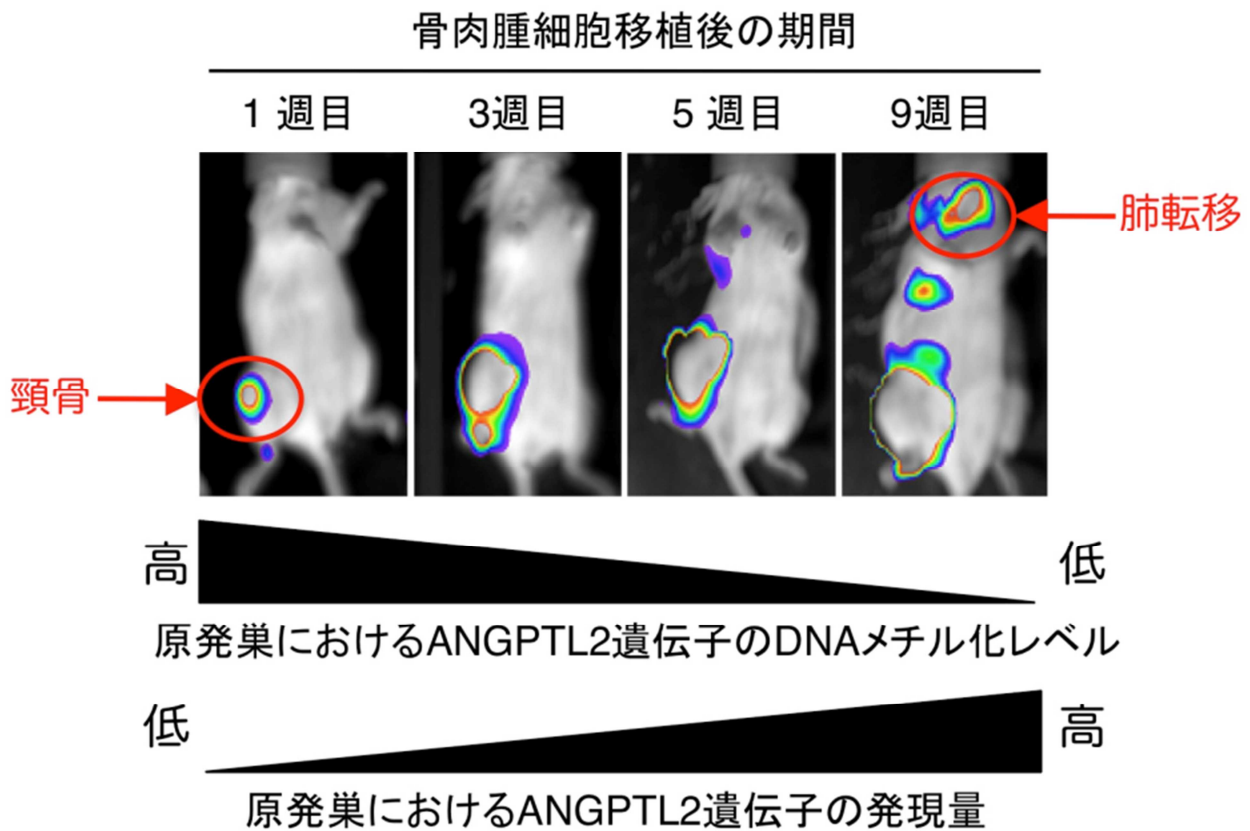


図 1. マウスに移植された骨肉腫細胞における ANGPTL2 遺伝子の DNA メチル化レベルと発現量の関係

図の写真は、移植した骨肉腫細胞が存在する部位を特殊な方法で可視化したもので、頸骨に移植したがん細胞が、移植後 9 週目には肺に転移していた。移植後の骨肉腫細胞では、ANGPTL2 遺伝子の DNA メチル化レベルは次第に減少し、その結果、ANGPTL2 遺伝子の発現量が増加することが明らかとなった。

### 骨肉腫細胞移植後の期間

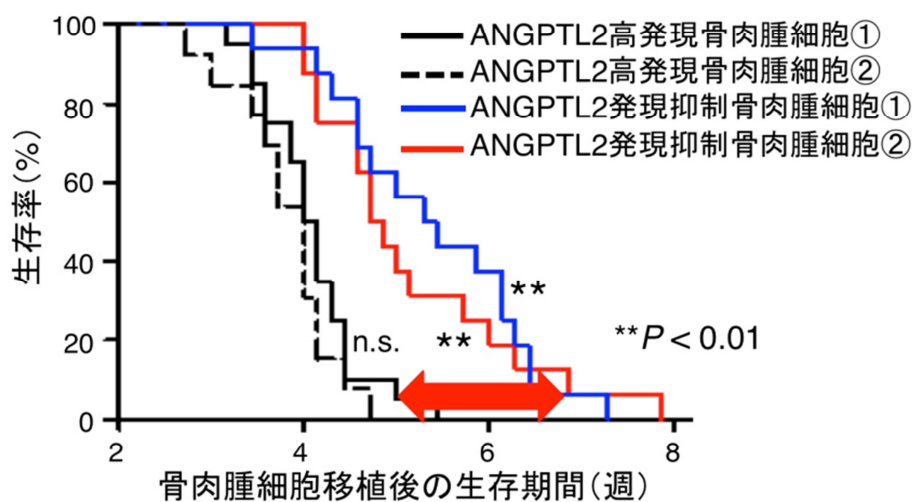
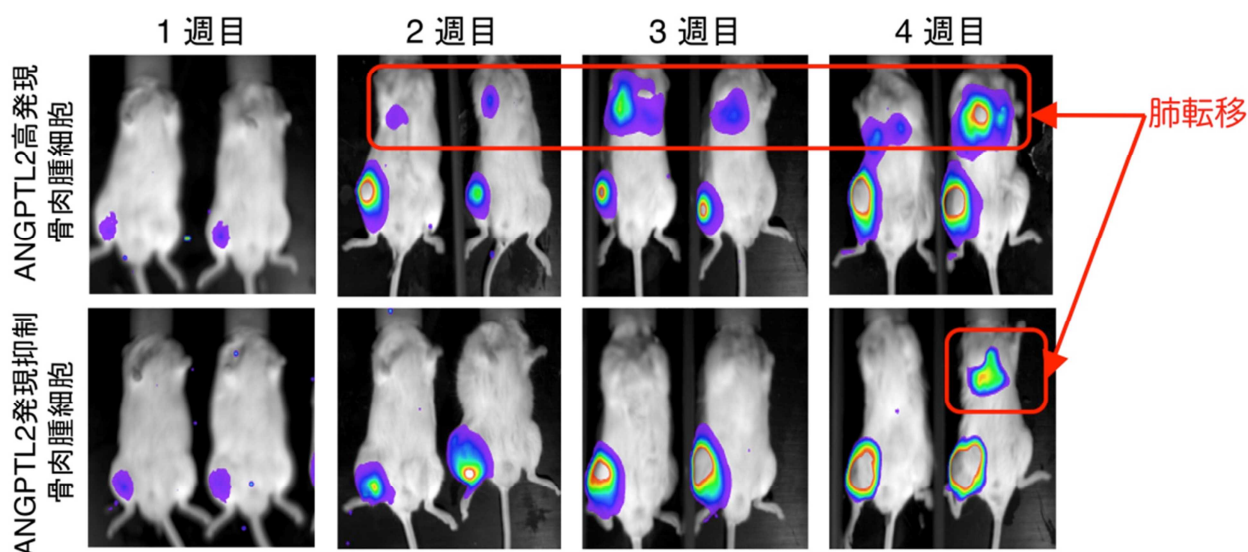


図 2. ANGPTL2 発現を抑制した骨肉腫細胞の転移の様子とマウスの生存期間  
 図の写真は、ANGPTL2 遺伝子を高発現する骨肉腫細胞と ANGPTL2 遺伝子の発現を抑制した骨肉腫細胞の転移の様子を可視化したものです。ANGPTL2 遺伝子の発現を抑制した骨肉腫細胞は、ANGPTL2 遺伝子を高発現する骨肉腫細胞に比べて、転移が抑制されていることを見出しました。さらに、ANGPTL2 遺伝子の発現を抑制した骨肉腫細胞を移植されたマウスの生存期間は、ANGPTL2 遺伝子を高発現する骨肉腫細胞を移植した場合に比べて延長していることが明らかとなりました (グラフ)。

## ANGPTL2によるがん転移促進のメカニズム

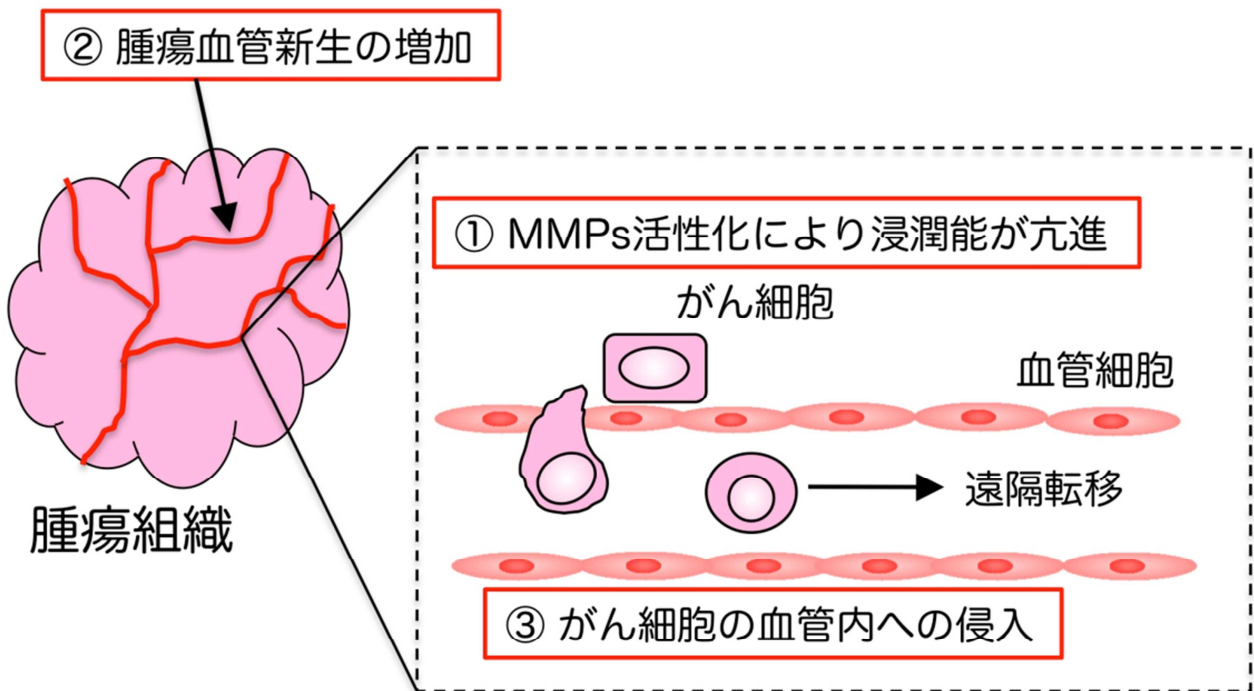


図 3. ANGPTL2 によるがん細胞の転移促進のメカニズム

がん細胞から分泌された ANGPTL2 タンパク質は、がん細胞自身に作用することで、組織破壊を行う MMPs を活性化し、がん細胞の浸潤能を増強する (①) ことが明らかとなりました。さらに、ANGPTL2 タンパク質は、腫瘍組織における腫瘍血管新生 (②) やがん細胞の腫瘍血管内への侵入 (③) を促進することで、がん転移を促進することを明らかにしました。



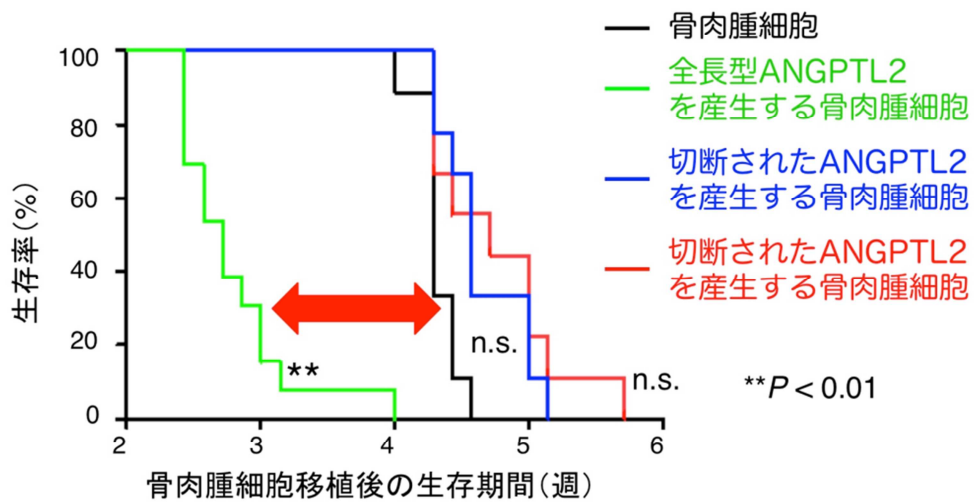
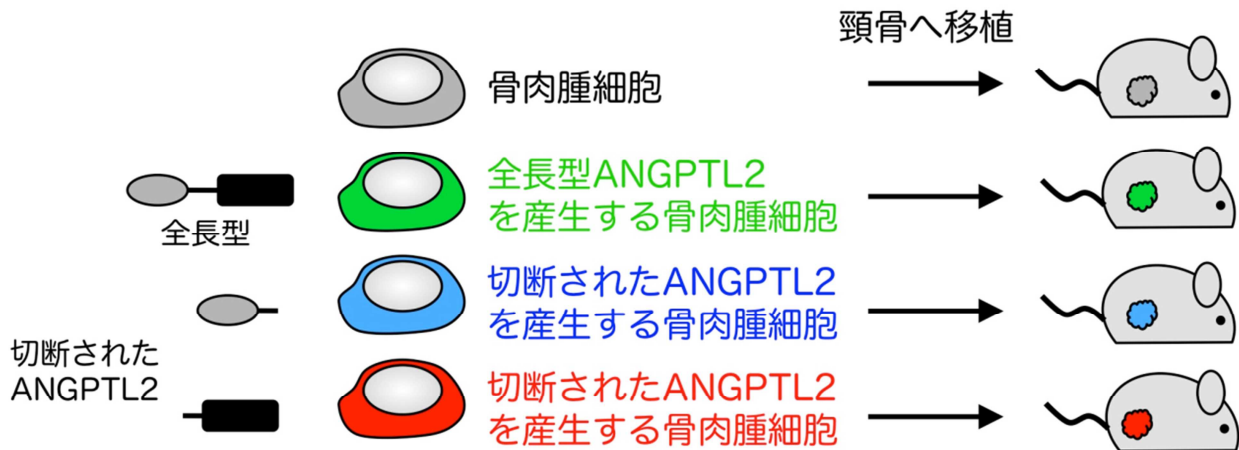


図4. 切断されたANGPTL2タンパク質は、がんの進展を促進する機能を失っている全長型のANGPTL2タンパク質を過剰に産生する骨肉腫細胞（緑）を移植したマウスは、ANGPTL2タンパク質を過剰産生させていない骨肉腫細胞（黒）生存期間が短縮するのに対し、切断されたANGPTL2タンパク質（青または赤）を過剰に産生する骨肉腫細胞では、マウスの生存期間の短縮が認められないことを見出しました。

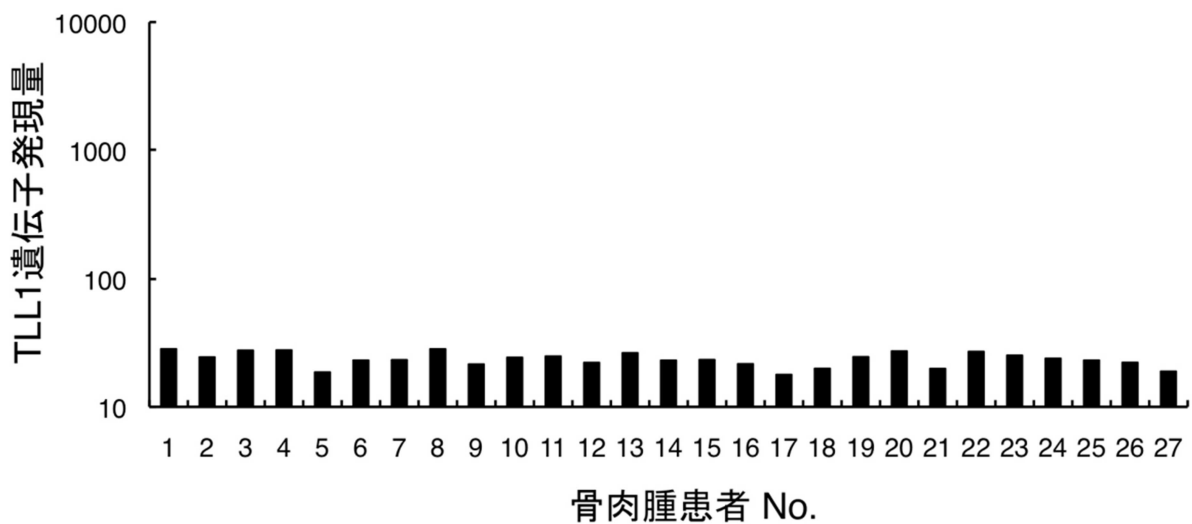
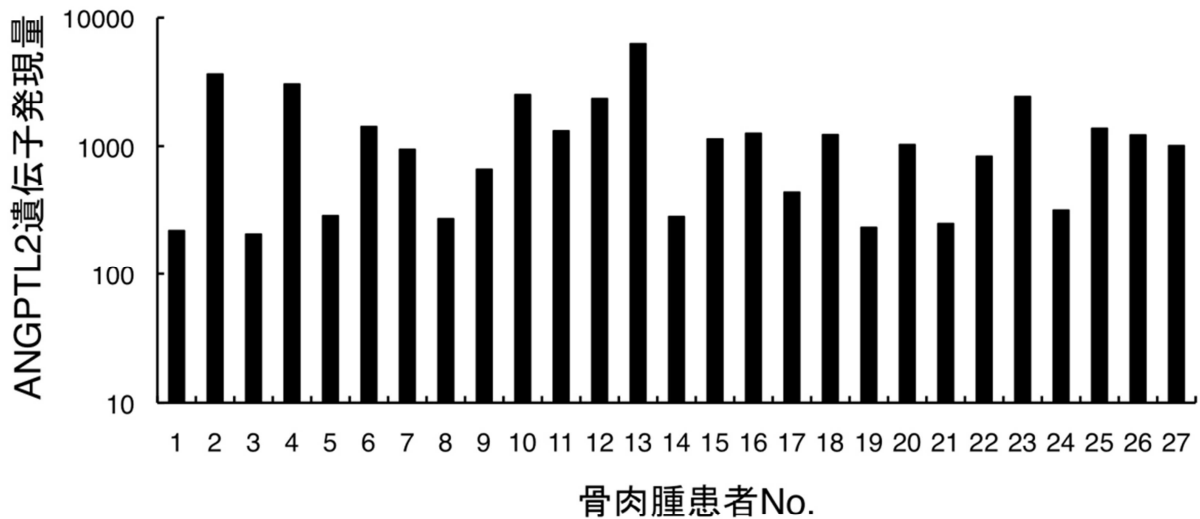
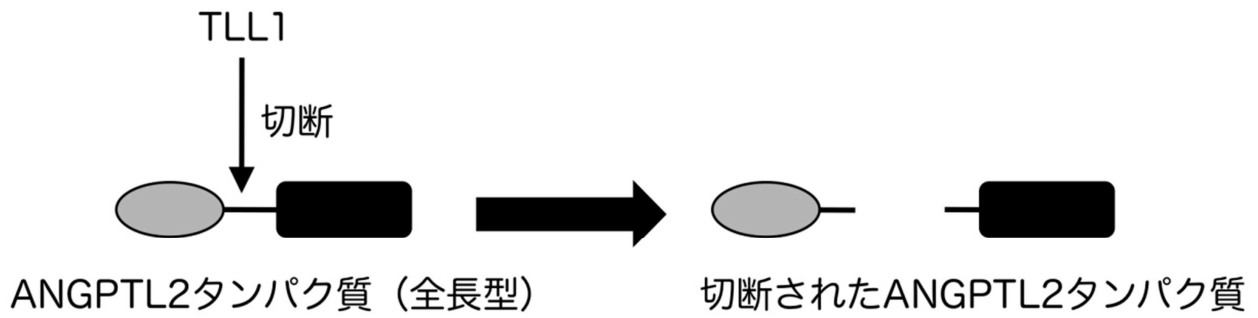


図5. ANGPTL2 は TLL1 によって切断される

ANGPTL2 は TLL1 と呼ばれるタンパク質分解酵素によって切断されることを明らかにしました (上段図)。さらに、骨肉腫患者の腫瘍組織では、ANGPTL2 遺伝子の発現量が高いのに対し (中段グラフ)、TLL1 遺伝子の発現量は非常に低い (下段グラフ) ことを明らかにしました。

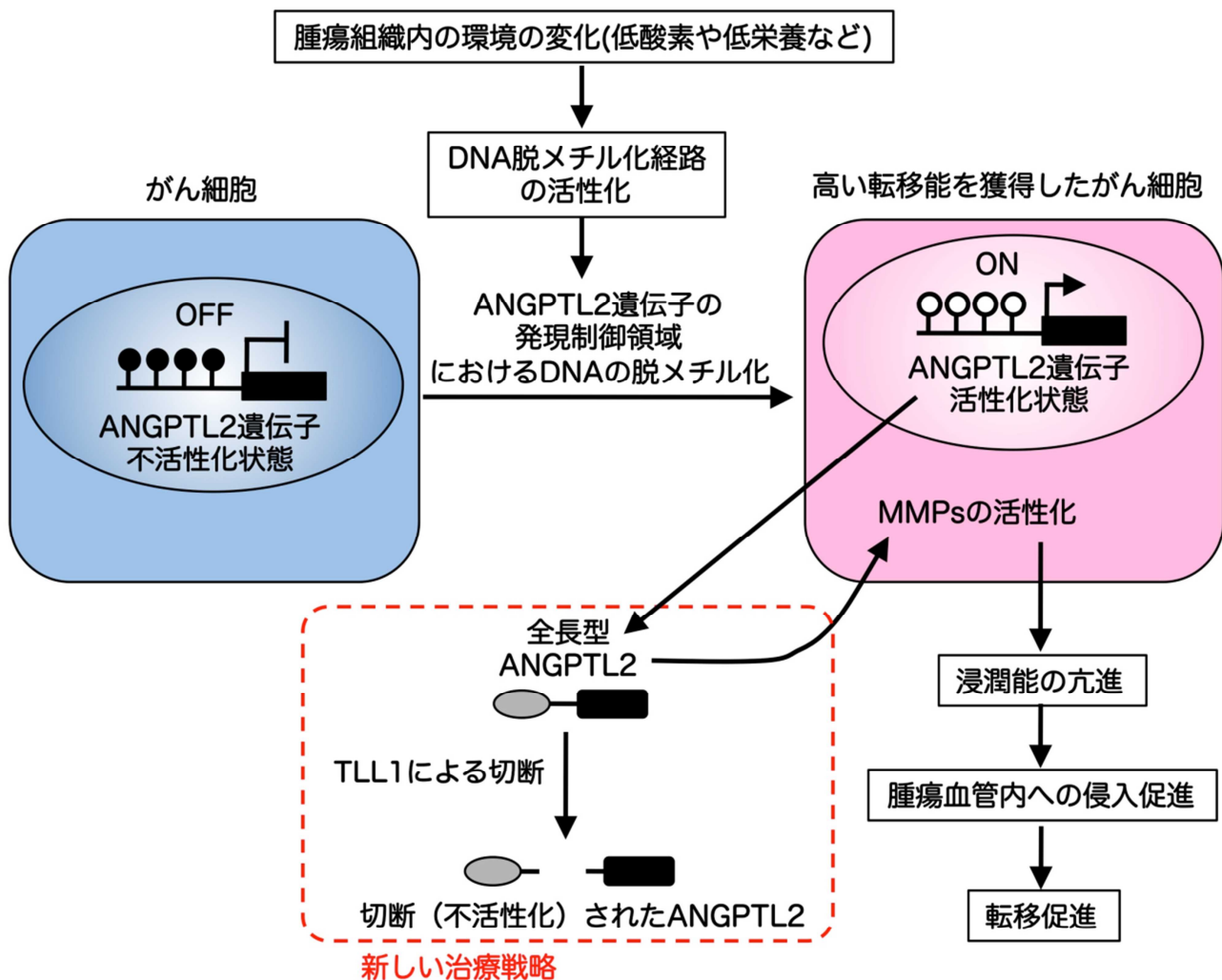


図 6. 今回の研究で明らかになったがん転移のメカニズムと新たながん転移に対する治療標的

腫瘍組織内の環境の変化によって骨肉腫細胞の ANGPTL2 遺伝子が DNA の脱メチル化により活性化され、その結果、骨肉腫細胞から分泌されるようになった ANGPTL2 タンパク質が、骨肉腫細胞自身の浸潤能や腫瘍血管内への侵入を促進することで、転移を促進することを明らかにしました。さらに、TLL1 が ANGPTL2 を切断することでその転移促進能を不活化することを見出し、TLL1 による ANGPTL2 の切断を促進することが、がん転移に対する新たな治療標的となる可能性が考えられました。

## <用語解説>

注1) アンジオポエチン様タンパク質2 (Angiopoietin-like protein2: ANGPTL2)

アンジオポエチン様タンパク質は血管新生因子であるアンジオポエチンに構造上類似する分泌型タンパク質として同定され、現在8種類存在します。ANGPTL2は、そのファミリーメンバーの一つです。尾池教授らにより、糖尿病、動脈硬化性疾患、がんなどの生活習慣病の発症や進展に関わることが明らかとなっており、ANGPTL2の量や作用を抑えることによって新たな生活習慣病の治療薬開発に繋がるものと期待されています。

注2) DNAメチル化

DNAのメチル化は、ゲノムDNAの配列の変化を伴わずに、遺伝子の発現に影響を与える現象として知られるエピジェネティクスと呼ばれる遺伝子の発現制御機構の1つです。DNAがメチル化された遺伝子は、不活性化されることが知られています。がん細胞では、がん抑制遺伝子の多くがDNAメチル化によって不活性化されており、がん抑制遺伝子の脱メチル化を促す薬剤が抗がん剤として既に利用されています。

注3) マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs)

MMPsは、分泌型のタンパク質分解酵素で、コラーゲンなどの基質を分解することが知られています。本来、MMPsは損傷を受けた組織の修復などに関わっていますが、がんの病態では、がん細胞がMMPsを利用して組織を破壊し、周囲の正常組織内に浸潤することが知られています。

注4) TLL1

TLL1は、分泌型のタンパク質分解酵素で、コラーゲンなどの様々な基質を分解することが知られています。TLL1は心臓の発生に重要な遺伝子であることが以前から報告されていますが、近年、DNAメチル化によって不活性化されている遺伝子の1つとしてTLL1が報告され、がん抑制遺伝子として機能する可能性が示唆されています。

## <論文名>

“The Secreted Protein ANGPTL2 Promotes Metastasis of Osteosarcoma Cells Through Integrin  $\alpha 5\beta 1$ , p38 MAPK, and Matrix Metalloproteinases

Haruki Odagiri<sup>1,2</sup>, Tsuyoshi Kadomatsu<sup>1</sup>, Motoyoshi Endo<sup>1</sup>, Tetsuro Masuda<sup>1,2</sup>, Masaki Suimye Morioka<sup>3</sup>, Shigetomo Fukuhara<sup>4</sup>, Takeshi Miyamoto<sup>5</sup>, Eisuke Kobayashi<sup>5</sup>, Keishi Miyata<sup>1</sup>, Jun Aoi<sup>1</sup>, Haruki Horiguchi<sup>1</sup>, Naotaka Nishimura<sup>1</sup>, Kazutoyo Terada<sup>1</sup>, Toshitake Yakushiji<sup>2</sup>, Ichiro Manabe<sup>3</sup>, Naoki Mochizuki<sup>4</sup>, Hiroshi Mizuta<sup>2</sup>, and Yuichi Oike<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Genetics, <sup>2</sup>Department of Orthopedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, 1-1-1 Honjo, Chuo-ku, Kumamoto 860-8556, Japan; <sup>3</sup>Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan; <sup>4</sup>Department of Cell Biology, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan; <sup>5</sup>Departments of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Keio University, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan;

<お問い合わせ先>

尾池雄一(オイケユウイチ)

熊本大学大学院生命科学研究部(医学系)分子遺伝学分野 教授

〒860-8556 熊本県熊本市本荘1-1-1

Tel:096-373-5140 Fax:096-373-5145 携帯:090-4771-7170

E-mail:oiike@gpo.kumamoto-u.ac.jp