

Upregulation of AEBP1 in endothelial cells promotes tumor angiogenesis in colorectal cancer

Cancer Sci. 2020 May; 111(5): 1631-1644. doi: 10.1111/cas.14360. Epub 2020 Apr 11.

Yorozu A, Yamamoto E, Niinuma T, Tsuyada A, Maruyama R, Kitajima H, Numata Y, Kai M, Sudo G, Kubo T, Nishidate T, Okita K, Takemasa I, Nakase H, Sugai T, Takano K, Suzuki H

要旨 血管新生は大腸がんの重要な治療標的である。本論文では、大腸がんの腫瘍血管関連遺伝子を探索し、AEBP1 (Adipocyte enhancer binding protein 1) の血管内皮細胞における高発現を同定し、AEBP1 が腫瘍血管新生促進に働くことを明らかにした。

1. 背景

早期大腸がんは内視鏡的に治療することが可能となったが、転移を来した進行大腸がんの予後はいまだ不良である。血管新生は、がんの増殖や転移に重要な役割を担っており、有望な治療標的である。進行大腸がんの治療において抗 VEGF 抗体ベバシズマブが使用されているが、その効果は必ずしも十分ではない。

腫瘍血管内皮細胞は正常血管内皮細胞と比較して、遺伝子発現プロファイルが異なることが、これまで多くの研究から提示されている。St. Croix らは大腸がん組織から腫瘍血管内皮細胞と正常血管内皮細胞を分離し、SAGE 法によるトランスクリプトーム解析を行い、一連の腫瘍血管内皮マーカー遺伝子を同定した (参考文献 1)。彼らが同定したマーカーの一つ TEM8 (ANXTR1) は、治療標的となりうることが後続研究から明らかにされている (参考文献 2)。

我々は大腸がんの血管新生メカニズムをさらに明らかにするため、新規腫瘍血管新生関連因子を探索し、その機能を解析することで、新たな治療法開発につなげることを目的とした。

2. 結果

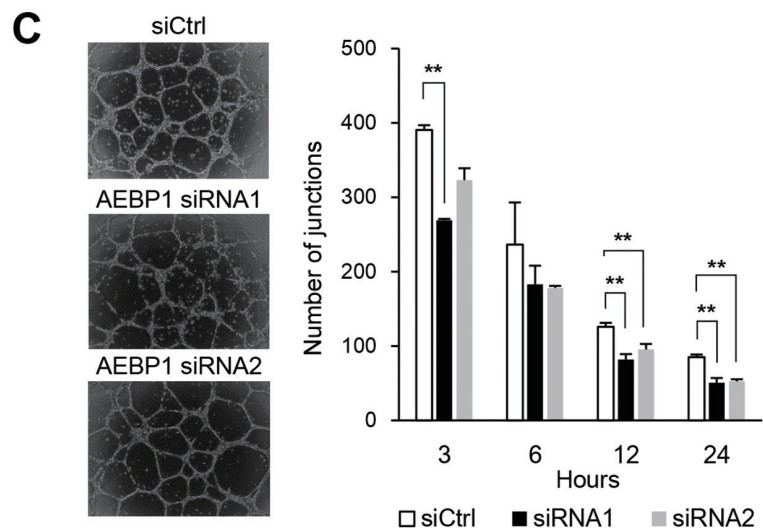
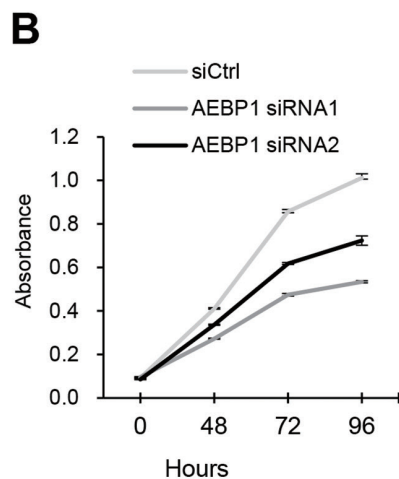
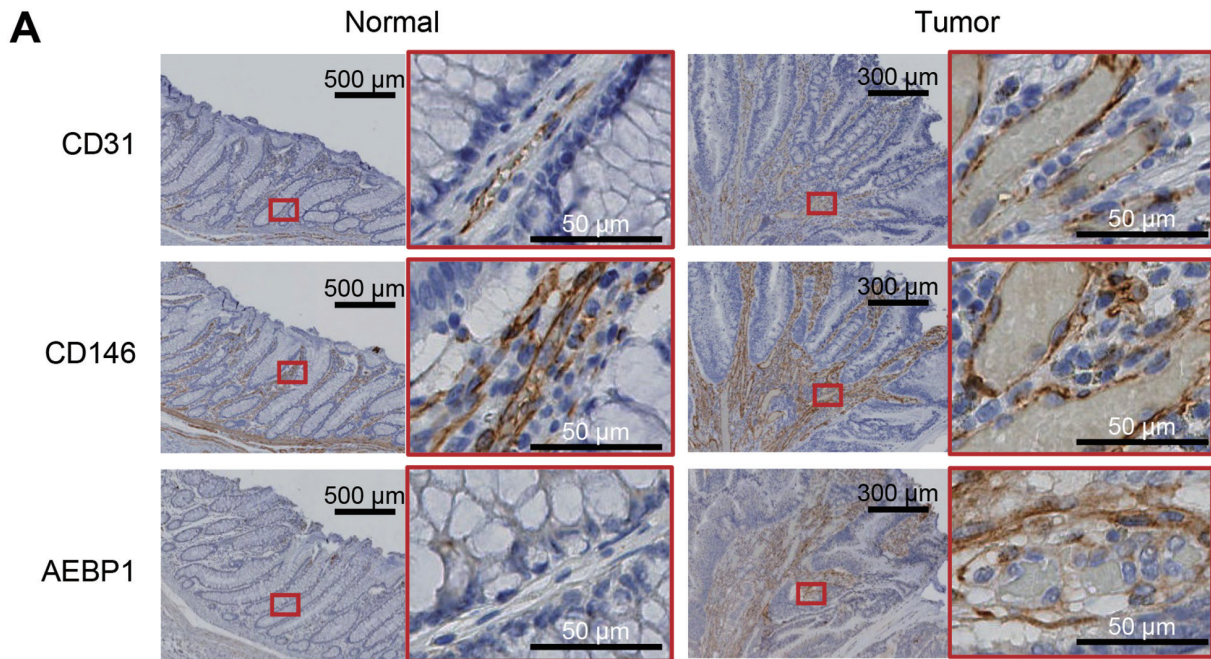
札幌医科大学附属病院で外科切除された大腸がん臨床検体から、腫瘍および正常血管内皮細胞を分離し、total RNA を抽出した。RNA-seq によるトランスクリプトーム解析の結果、腫瘍血管内皮細胞で発現上昇する遺伝子を 18 個同定した。その中には腫瘍血管内皮マーカーとして知られる ANXTR1 が含まれており、内皮細胞分離と発現解析が成功したことを示していた。同定した遺伝子の中で、我々は AEBP1 (Adipocyte enhancer binding protein 1) に着目した。The

Cancer Genome Atlas (TCGA) の公開データベースを用いた解析の結果、AEBP1 の高発現は大腸がんの予後不良と関連した。次に我々は、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) を用いて解析を進めた。がん細胞の共培養や、TGF- β 処理によって、HUVEC の AEBP1 発現が上昇したことから、がん細胞由来の因子によって血管内皮細胞の AEBP1 が誘導されることが示された。AEBP1 のノックダウンは、HUVEC の増殖、遊走、in vitro チューブ形成能を阻害し、逆にレンチウイルスベクターによる AEBP1 の過剰発現はそれらを促進した。また AEBP1 をノックダウンした HUVEC と大腸がん細胞株 DLD1 をヌードマウスに移植した結果、AEBP1 をノックダウンしない場合と比較して xenograft 内の微小血管新生が抑制された。

AEBP1 が血管新生を促進するメカニズムを明らかにするため、AEBP1 をノックダウンした HUVEC から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行った。その結果、AEBP1 の阻害は、AQP1 や POSTN など既知の血管新生関連遺伝子発現を抑制した。

3. 考察

AEBP1 は最初、アディポサイトの分化に関わる転写抑制因子として同定された (参考文献 3)。AEBP1 の遺伝子産物は ACLP (aortic carboxypeptidase-like protein) としても知られ、血管平滑筋の分化に関わることが知られている。また最近では、AEBP1 が大腸がんや胃がん細胞で発現上昇し、がん促進的に働くことが報告された (参考文献 4)。腫瘍血管内皮細胞における AEBP1 の発現上昇と、血管新生促進的な機能は本研究が初めて明らかにした。本研究から、AEBP1 ががん治療標的となりうる可能性が示された。



- A. 大腸がん臨床検体の非がん部と腫瘍部における血管内皮マーカー CD31, CD146 と AEBP1 の免疫組織染色. AEBP1 は正常血管内皮細胞では発現していないが, 腫瘍血管内皮細胞で発現上昇している.
- B. HUVEC に AEBP1 に対する siRNA を導入し, MTT アッセイを行った結果. AEBP1 のノックダウンにより HUVEC の cell viability の低下が認められた.
- C. HUVEC を用いた *in vitro* チューブ形成アッセイの結果. AEBP1 のノックダウンによりチューブ形成能の低下が認められた.

参考文献

1. St Croix B, Rago C, Velculescu V, et al. Genes expressed in human tumor endothelium. *Science* 2000; 289: 1197-1202.
2. Byrd TT, Fousek K, Pignata A, et al. TEM8/ANTXR1-Specific CAR T Cells as a Targeted Therapy for Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res* 2018; 78: 489-500.
3. He GP, Muise A, Li AW, Ro HS. A eukaryotic transcriptional repressor with carboxypeptidase activity. *Nature* 1995; 378: 92-96.
4. Xing Y, Zhang Z, Chi F, et al. AEBP1, a prognostic indicator, promotes colon adenocarcinoma cell growth and

metastasis through the NF-kappaB pathway. *Mol Carcinog* 2019; 58: 1795-1808.

萬 顕

略歴

2008年 北海道大学歯学部卒業
2016年 札幌医科大学医学部卒業
2017年 札幌医科大学大学院入学