

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間： 2007～2009

課題番号：19390089

研究課題名（和文）炎症が癌の血管新生と悪性化を促進する分子機構 - がん微小環境の重要性

研究課題名（英文）The critical role of inflammation in angiogenesis and malignant progression by cancer cells through altered tumor microenvironment

研究代表者

小野 眞弓（ONO MAYUMI）

九州大学・薬学研究院・客員教授

研究者番号：80128347

研究成果の概要（和文）：

がんの発症や悪性進展にがんの微小環境や間質の炎症応答が重要な鍵を握っている。我々は間質の反応である血管新生やリンパ管新生に注目し、特にがん関連マクロファージに焦点をあて、新しい診断や治療のバイオマーカーの探索研究をすすめている。炎症反応に応答して誘導される血管新生やリンパ管新生には活性化マクロファージの浸潤が関与すること、マクロファージから産生される VEGFA, VEGFC, VEGFD は転写因子である NF- κ B を介して産生されること、マクロファージ標的薬剤（リポソーム化クロドロネート）はマウスモデルにおける血管新生やリンパ管新生を著明に阻害することを観察した。

研究成果の概要（英文）：

Increasing evidence confirms that chronic inflammation is the strongest link to cancer. In 1850, Rudolf Virchow from Wurzburg, Germany, was the first to link chronic inflammation with arthritis, obesity, asthma and cancer. We observed that inflammatory cytokines, IL-1 β , could induce angiogenesis and lymphangiogenesis through activation of transcription factor, NF- κ B and proinflammatory gene products. Enhanced angiogenesis resulted in tumor progression with macrophage infiltration and this was inhibited by macrophage targeting drugs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2008年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2009年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	13,500,000	4,050,000	17,550,000

研究分野：細胞生物学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：炎症、がん、血管新生、がん微小環境、リンパ管新生

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

我々の身体の中で最も大きなネットワーク形成が血管新生やリンパ管新生などの脈管形成である。がんをはじめとして炎症、虚血、感染症、免疫疾病などの病気に観察される。疾病と関連する脈管新生はしばしば調節制御から逸脱して誘導されることも知られている。炎症や感染症とがん発症や進展が密接に関連することは、1863年ウィルヒョー博士が "Lymphoreticular infiltrate reflects origin of cancer at sites of chronic inflammation" と論文中に述べている。炎症とがんを結び付ける1つの間質応答として炎症性の血管新生の関与が挙げられる。特にがん間質細胞(マクロファージや線維芽細胞を含む)や血管/リンパ管新生ががんの悪性進展に関与する研究は最近多大な注目を集めている。我々はがんの血管新生におけるマクロファージや好中球などの浸潤と役割の機構を明らかにし、血管新生の悪性進展とその病態の新しい観点による研究を進めた。

2. 研究の目的

(1) 炎症性サイトカインによる癌の血管新生とリンパ管新生の誘導とその生化学的機序

(2) 腫瘍関連マクロファージや好中球による血管新生やリンパ管新生促進の機序

(3) ヒト肺癌の悪性進展における炎症と血管新生やリンパ管新生の役割

(4) 炎症性サイトカインによる癌の血管新生とリンパ管新生誘導に関与する関連因子の同定とその制御

以上のことを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) がん浸潤したマクロファージは腫瘍関連マクロファージと呼ばれるがその浸潤の数はヒトの多くの癌腫でがん患者の予後や新生血管密度と有意に相関することが報告されているし、我々もヒトメラノーマや脳腫瘍の組織標本で検討した。このマクロファージの性質を明らかにするために、乳癌や肺癌で腫瘍関連マクロファージが血管新生因子やケモカインなどを生産しているか否かを免疫染色法やマイクロディセクション/ RNA分析法などで検討する。単級/マクロファージを腫瘍に遊走させ、血管新生を誘導する腫瘍関連マクロファージに変換させる最初の鍵を握るのは MCP-1、MIP-1、CSF などのケモカインである。ヒト乳癌や肺癌で各々のケモカインが最も重要な役割を果たして

いるのかをヒト癌での発現や局在を明らかにする。

(2) 我々の動物実験では好中球は炎症にตอบสนองして比較的初期に出現してくるが、血管新生やリンパ管新生への関与については明らかではない。好中球についてもヒトがん組織でその浸潤を検討する。と同時に、我々が最近報告しているヒト肺癌の血管新生や間質応答に重要な役割が期待される NDRG1/Cap43 (Maruyama et al., 2006, Cancer Res.) は好中球の遊走や活性化にも重要であることを見出しつつある。NDRG1/Cap43 遺伝子や好中球遊走因子などの発現もヒトがん検討していく。

(3) ヒト肺癌や乳癌において血管新生因子やリンパ管新生因子の発現を促進するサイトカインが各々であるかを多くの培養系のヒトがん細胞で同定する。と同時に臨床材料でそれらの発現を検討していく。

4. 研究成果

炎症性サイトカインである IL-1 は VEGF と同等にマウス角膜の血管新生を誘導すること、この血管新生には COX2 を活性化したマクロファージの浸潤をとまなっていること、このマウス角膜は VEGFA, MIP-1, ENA78 などの発現が亢進していることを報告した。本研究では IL-1 を高発現した LLC/ IL-1 細胞移植モデル系やマクロファージ細胞を用いた実験で以下の事が確認された。

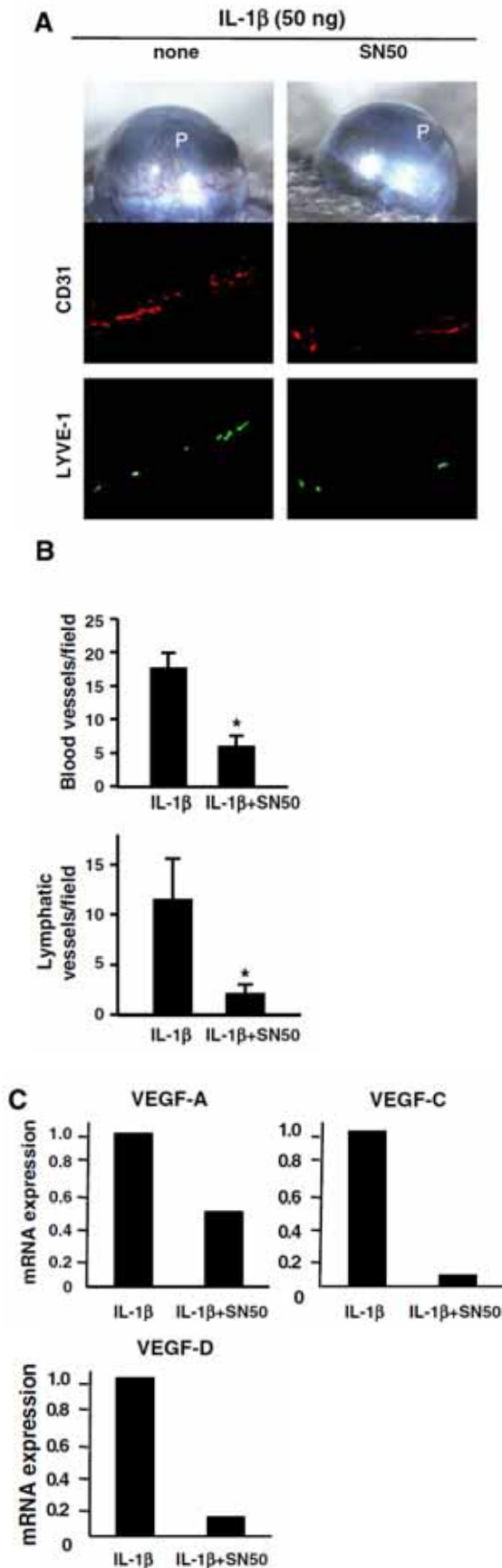
(1) LLC/ IL-1 細胞は in vitro での増殖には LLC mock 細胞と同等の増殖速度を示すがマウスの腫瘍増大を誘導した

(2) LLC/ IL-1 細胞はマクロファージの走化因子である MCP-1 や VEGFA や MMP-9 の発現を亢進する

(3) LLC/ IL-1 細胞では転写因子である NF- κ B の活性化の亢進を認めた

(4) LLC/ IL-1 細胞移植モデル系での腫瘍の血管密度とマクロファージの浸潤の亢進を観察した

(5) IL-1 はマウス角膜でのリンパ管新生を誘導し、これには NF- κ B の活性化による VEGFA や VEGFC の発現の亢進が関与していた



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 27 件)

Murakami, Y., Hosoi, F., Izumi, H., Maruyama, Y., Ureshino, H., Watari, K., Kohno, K., Kuwano, M. and Ono, M. Identification of sites subjected to serine/threonine phosphorylation by SGK1 affecting N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1)/Cap43-dependent suppression of angiogenic CXC chemokine expression in human pancreatic cancer cells. **Biochem. and Biophys. Res Commun.** In press, 2010.

Taniguchi, K., Sasaki, K., Watari, K., Yasukawa, H., Imaizumi, T., Ayada, T., Okamoto, F., Ishizaki, T., Kato, R., Kohno, R., Kimura, H., Sato, Y., Ono, M., Yonemitsu, Y., Yoshimura, A. Suppression of *Sproutys* Has a Therapeutic Effect for a Mouse Model of Ischemia by Enhancing Angiogenesis. **PLoS ONE.**, 4, e5467:1-11, 2009.

Hosoi, F., Izumi, H., Kawahara, A., Yuichi, M., Kinoshita, H., Kage, M., Nishio, K., Kohno, K., Kuwano, M., and Ono, M. N-myc downstream regulated gene 1/Cap43 suppresses tumor growth and angiogenesis of pancreatic cancer through attenuation of IKKbeta expression. **Cancer Res.**, 69:4983-4991, 2009.

Watari, K., Nakao, S., Fotovati, A., Basaki, Y., Hosoi, F., Bereczky, B., Higuchi, R., Miyamoto, T., Kuwano, M., Ono, M. Role of macrophages in inflammatory lymphangiogenesis: Enhanced production of vascular endothelial growth factor C and D through NF- κ B activation. **Biochem. and Biophys. Res Commun.**, 377:826-31, 2008.

Ono, M. (Review) Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. **Cancer Sci.**, 99:1501-1506, 2008.

Kimura, Y., Watari, K., Fotovati, A., Hosoi, F., Yasumoto, K., Izumi, H., Kohno, K., Umezawa, K., Iguchi, H., Shirouzu, K., Takamori, S., Kuwano, M., and Ono, M. Inflammatory stimuli from macrophages and cancer cells

synergistically promote tumor growth and angiogenesis. **Cancer Sci.**, 98: 2009-2018, 2007.

Nakao, S., Hata, Y., Miura, M., Noda, K., Kinura, Y., Kawahara, S., Kita, T., Hisatomi, T., Nakazawa, T., Jin, Y., Dana, R., Kuwano, M., Ono, M., Ishibashi, T. and Hafezi-Moghadam, A. Dexamethasone inhibits IL-1 β -induced corneal neovascularization: role of NF- κ B-activated stromal cells in inflammatory angiogenesis. **Am. J. Path.**, 171: 1058-1065, 2007.

〔学会発表〕(計 49 件)

渡 公佑、樋口 隆一、小野 眞弓、宮本 智文

炎症性サイトカイン誘導のリンパ管新生にはマクロファージ由来の VEGF-C と -D が関与する。(講演)(九大)第 26 回(平成 21 年度)日本薬学会九州支部総会・大会 2009 年 12 月 12-13 日

渡 公佑、細井文仁、馬崎 雄二、宮本 智文、樋口 隆一、小野 眞弓

腫瘍内に浸潤してくるマクロファージは がんの血管新生や悪性進展に重要な役割を担っている。第 3 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(口演) 2009 年 11 月 14-15 日

Mayumi Ono, Fumihito Hosoi, Hiroto Izumi, Kazuto Nishio, Kimitoshi Kohno, Michihiko Kuwano

N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1)/Cap43 suppresses tumor growth and angiogenesis of pancreatic cancer through attenuation of NF- κ B signaling. AACR 100th Annual Meeting 2009 (ポスター) April 18-22, 2009, Denver, Colorado, USA.

小野眞弓

がん治療創薬の新しい標的としての血管新生と炎症。薬学研究フォーラム in 東京 2008 (口頭発表)(東京)2008 年 3 月 14 日

Ono, M.

A novel therapeutic strategy of tumor angiogenesis and bone metastasis by targeting tumor-associated macrophages.; The Sixth Japan-China Joint Conference for Cancer Research Cancer-Host Interaction (Invited speaker) October 6,7, 2007, Hokkaido, Japan.

Ono, M.

Tumor Microenvironment ; The role of tumor-associated macrophages in

malignant cancer progression " 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association " (Symposia) October 3-5 , 2007 , Yokohama, Japan.

〔図書〕(計 5 件)

1. 血管新生の分子メカニズムと標的分子 . 呼吸器内科 , 科学評論社 , 印刷中 , 2010 .
2. 腫瘍血管新生における炎症細胞の役割 . 細胞 , ニューサイエンス社 , 40:508-511 , 2008 .
3. 血管新生の分子機構と標的分子 (特集 : 肺がんの分子標的治療 最新の基礎と臨床) . 呼吸器科 , 科学評論社 , 13 : 221-228 , 2008 .
4. 血管発生・新生の分子機序 マクロファージ浸潤による血管新生 . 医学のあゆみ , 医歯薬出版 , 223 : 983-987 , 2007 .
5. 消化器癌浸潤・転移における間質血管新生を探る . 分子消化器病 4 , 先端医学社 , 6-13 , 2007 .

〔その他〕

ホームページ等

<http://shuyo.phar.kyushu-u.ac.jp/>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

小野 眞弓 (ONO MAYUMI)

九州大学・薬学研究院・客員教授

研究者番号 : 8 0 1 2 8 3 4 7