

平成 22 年 6 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007 ～ 2009
 課題番号：19591927
 研究課題名（和文） 遺伝子改変マウスの上皮性腫瘍発生モデルを用いた
 新たな癌治療戦略の開発
 研究課題名（英文） Development of the new treatment strategy for cancer using the
 transgenic mice that induced the epithelial tumors
 研究代表者
 中村 隆文 （ NAKAMURA TAKAFUMI ）
 川崎医科大学・医学部・教授
 研究者番号：20303969

研究成果の概要（和文）：十全大補湯・補中益気湯などの補剤である漢方薬が担癌マウスの寿命を統計学的に有意に延長した。またこれらの漢方薬は自然免疫を賦活する作用があり、担癌マウスの免疫を活性化した可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Herbal medicine (Juzentaihoto, Hochuekkito) extended duration of life of cancer bearing laboratory mouse significantly. These herbal medicine are able to activate natural immunity, and there would be a possibility that the immunology of cancer bearing laboratory mouse might be activated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・実験動物

キーワード：SV40T 抗原、トランスジェニックマウス、水晶体腫瘍、自然免疫マクロファージ、NK細胞、漢方薬

1. 研究開始当初の背景

悪性中皮腫、脳腫瘍、骨肉腫、非ホジキンリンパ腫に DNA ウイルスである SV40 の遺伝子が検出され、また SV40 癌蛋白である T 抗原が p53 や pRB 癌抑制遺伝子産物と結合していることも証明されてきた。また最近問題になっているアスベストによる悪性中皮腫と潜在性に感染している SV40 ウイルスとの関連も問題になってきている。

我々は DNA ウイルス癌蛋白（SV40T 抗原）を水晶体上皮細胞に特異的に発現させることにより出生時に異形成から上皮内癌を呈し、数ヶ月後に浸潤癌（未分化上皮癌）となる水晶体上皮性腫瘍発生トランスジェニックマウス（ α T3 マウス）を開発した。本マウスは腫瘍をマウスの生きた状態で直接可視下で評価できるという利点を有する。加えて本マウスは正常な免疫機能を有し、かつ最終的には脳組

織に視神経を介して浸潤し、頸部リンパ節・肺に転移しても約1年の生存が可能である。そのため本マウスを用いることにより、SV40 DNA ウイルス発癌機構を解明することが可能となるばかりでなく、正常な免疫系を有するため免疫学的立場から、癌免疫の研究や癌発生の予防や癌浸潤・進展制御を検討することが可能となった。また長期間の使用により効果の現れる分子標的薬剤や免疫賦活作用を持つ薬剤のスクリーニングならびに種々の抗癌剤の治療効果を判定するのに最適である。つまり我々の作製した SV40T 抗原遺伝子によって長期間かかり多段階発癌するモデルマウスはますます重要になってきている。

2. 研究の目的

SV40T抗原により発生した上皮性未分化腫瘍に対する漢方治療が癌発生・増殖進展・転移に影響するか検討する。さらに漢方薬による自然免疫賦活作用を検討する。

3. 研究の方法

我々は水晶体上皮に SV40T 抗原を特異的に発現する α T3 マウスを作製した。十全大補湯、補中益気湯、小柴胡湯を用いて 1.5% 混飼を作製して各漢方薬を α T3 マウスに長期間投与した場合の α T3 マウス腫瘍の増殖進展や担癌マウスの寿命について検討した。自然免疫であるマクロファージの浸潤について組織学的に検討した。

①自然免疫が癌の進展・浸潤に関与するかどうかの検討

α T3 マウスにマクロファージの阻害剤である 2-クロロアデノシンや抗マクロファージ抗体を腹腔内投与して腫瘍の進展・浸潤がどうなるかを検討する。またNK細胞に対する抗体である抗 asialo-GM1 抗体を腹腔内投与して腫瘍の進展・浸潤がどうなるかも検討する。

②自然免疫賦活薬剤のスクリーニングと機構の解析

α T3 マウスに免疫賦活作用のある十全大補湯、補中益気湯、人參養榮湯、小柴胡湯などの漢方製剤を投与することにより、数ヶ月後に病理学的に腫瘍の解析をする。また十全大補湯、補中益気湯に関しては α T3 マウスの平均寿命を延ばしていることが明らかになってきているので、その機構としてマクロファージやNK細胞である自然免疫の賦活の関与しているかを検討する。さらに α T3 マウスの上皮性腫瘍が脳組織へ浸潤するのを遅らせている可能性があるため、その浸潤抑制に関与する免疫担当細胞の同

定をする。

4. 研究成果

1) α T3 マウスは多段階発癌を示し、胎生期より水晶体上皮細胞に異形成を生じ始め、出生時期から約2ヶ月で上皮内癌にまでになり、生後数ヶ月で周囲組織を破壊する浸潤癌となり脳に浸潤する。さらに進行すると頸部のリンパ節や肺に転移する。 α T3 マウスは時間的、空間的に極めて均一な未分化上皮性腫瘍を発生するモデルマウスであり、ヒトパピローウイルス (HPV) が子宮頸癌を発症する経過と病理学的に酷似していた。(図1, 2)

図1 水晶体腫瘍発生(→頸部リンパ節転移)

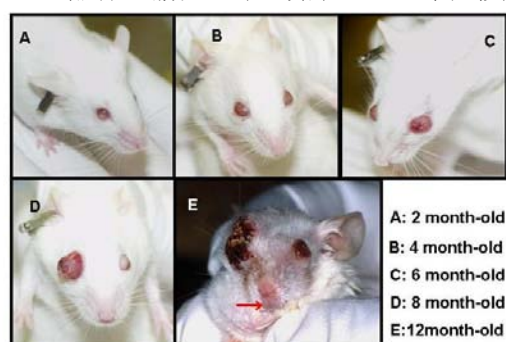
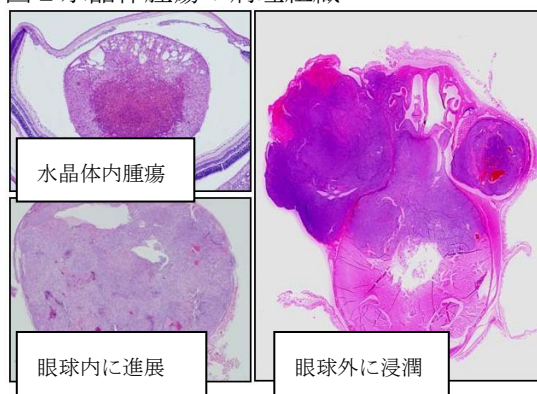


図2 水晶体腫瘍の病理組織

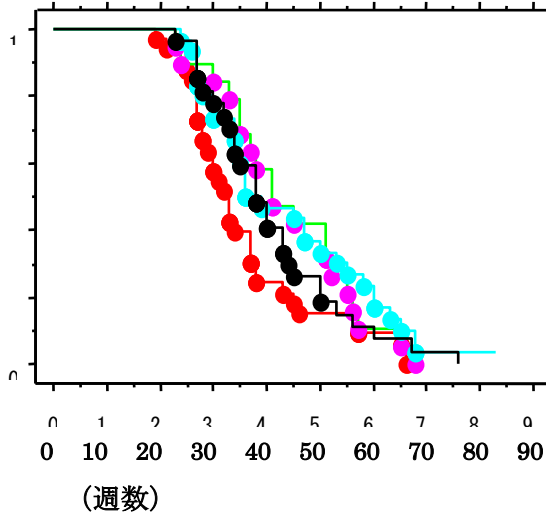


2) 抗マクロファージ抗体を腹腔内に持続的投与することで α T3 マウスの寿命が延長する傾向があったので α T3 マウスの腫瘍の進展・浸潤・転移にはマクロファージが関連していることが示唆された。

3) α T3 マウスに漢方3剤の各混飼を生後4週より死亡するまで持続投与すると漢方3剤とも各投与群では α T3 マウス腫瘍の増殖進展は抑制され、8~10週間の延命効果があった。漢方3剤ともに担癌マウスの延命効果が確認できた。特に十全大補湯と補

中益気湯は統計学的に有意に延命効果があった。これらの漢方3剤はそれぞれ異なった機構でマクロファージの抗腫瘍活性と腫瘍進展促進活性のバランスを微妙に調節して、担癌マウスに抗腫瘍効果を発揮している可能性がある。

図3 漢方内服による担癌マウスの生存率



- α T3コントロール群 (n=33)
- α T3+全大補湯投与群 (n=19)
- α T3補中益気湯投与群 (n=30)
- α T3小紫胡湯投与群 (n=27)

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3件)

1. Zheng HC., Nakamura T., Zheng Y., Nakanishi Y., Tabuchi Y., Uchiyama A., Takahashi H., Takano Y.

SV40 T antigen disrupted the cell metabolism and the balance between proliferation and apoptosis in lens tumors of transgenic mice.

J Cancer Res Clin Oncol. 135 1521-1532 2009

2. Hidaka T., Shima T., Nagira K., Ieki M., Nakamura T., Aono Y., Kuraishi Y., Arai T., Saito S.

Herbal medicine Shakuyaku-kanzo-to reduces Paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy in mice

Eur J Pain 13:22-27 2009

3. 中村隆文

DNA ウイルス (SV40T 抗原) により誘発したマウス水晶体上皮性腫瘍を用いた新たな癌治療戦略の開発

日本産科婦人科学会東北連合地方部会誌

55 : 149-156 2008

[学会発表] (計3件)

1. 中村隆文

DNA ウイルス (SV40T 抗原) により誘発したマウス水晶体上皮腫瘍を用いた新たな癌治療戦略の開発

第174回川崎医学会講演会

2009年12月22日

川崎医科大学

2. 中村隆文

SV40T 抗原誘発担癌マウスを用いた漢方薬による癌治療効果の検討

第60回日本産科婦人科学会

2008年4月12日

3. 中村隆文

SV40T 抗原誘発担癌マウスを用いた漢方薬による癌治療効果の検討

COEシンポジウム

2007年11月16日

富山県民会館

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0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0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

中村隆文 (NAKAMURA TAKAFUMI)

川崎医科大学・教授

研究者番号：2030396

(2) 研究分担者

齋藤 滋 (SAITO SHIGERU)

富山大学大学院・医学薬学研究部 (医学)

教授

研究者番号：30175351

(3) 研究分担者

山本 博 (YAMAMOTO HIROSHI)

富山大学生命科学先端研究センター・准教

授

研究者番号：00108797