

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月11日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592549

研究課題名（和文）腺様嚢胞癌血行性転移機構における一酸化窒素合成酵素の関与と転移抑制の検討

研究課題名（英文）Effect of nitric oxide on mechanism of hematogenous metastasis and analysis of prevention of metastasis in adenoid cystic carcinoma

研究代表者

高岡 一樹（TAKAOKA KAZUKI）

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：60373122

研究成果の概要（和文）：本研究は、一酸化窒素(NO)およびその合成酵素である一酸化窒素合成酵素(NOS)の腺様嚢胞癌血行性転移との関わりについての検討を目的とし、ヌードマウス可移植性口底腺様嚢胞癌株の高転移能を有する未分化癌(ACCIM)ヌードマウスモデルを用いて、NOS阻害剤や代表的なケモカインレセプターであるCXCR4拮抗薬およびiNOS阻害剤投与による影響を検討した。その結果、NOS阻害剤やCXCR4拮抗薬はアポトーシスを誘導し、腫瘍の血管新生や増殖を阻害すること、さらにCXCR4は転移、iNOSは腫瘍増殖および転移に関連する因子であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：To elucidate effect of nitric oxide on mechanism of hematogenous metastasis and analysis of prevention of metastasis in adenoid cystic carcinoma, efficacy of single agent or combination chemotherapy of NOS inhibitor and CXCR4 antagonist was examined using xenograft mouse models of human adenoid cystic carcinoma. Treatment with iNOS inhibitor and combined therapy induced apoptosis and significant inhibitory effect for tumor-induced angiogenesis and proliferation of ACCIM. Blocking CXCR4 and iNOS inhibited lung metastasis of adenoid cystic carcinoma, suggesting that CXCR4 and iNOS may become molecular targets to inhibit tumor progression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：腺様嚢胞癌、転移、一酸化窒素合成酵素

1. 研究開始当初の背景

腺様嚢胞癌(ACC)は極めて緩徐な発育と著明な浸潤性増殖、早期の血行性転移を示す。最近の報告では頭頸部悪性腫瘍全体の10～15%を占める。リンパ節転移は扁平上皮癌に

比べて少ないが、主に、肺に血行性転移をきたす。ACCの5年生存率は83%であるに対し、15年生存率は55%で、15年以内に31%が局所再発、24%に遠隔転移を認めている。さらに、遠隔転移の62.5%は肺への転移であった

ことが報告されている。このように ACC は固形癌のなかでも、浸潤・転移において特異な性質をもっており、血行性転移の制御は患者の予後を大きく左右する。

2. 研究の目的

一酸化窒素(NO)は腫瘍において、血管新生を含む多岐にわたる局面で生理活性を有するラジカルである。本研究は NO およびその合成酵素である一酸化窒素合成酵素(NOS)の ACC 血行性転移との関わりについての検討を目的とした。また、ケモカインレセプター CXCR4 は癌の転移における細胞の遊走や播種において中心的役割を担っている。そこで、ヌードマウス可移植性口底腺様嚢胞癌株の高転移能を有する未分化癌(ACCIM)ヌードマウスモデルにおける NOS 阻害剤と CXCR4 拮抗剤および併用療法の効果について検討した。

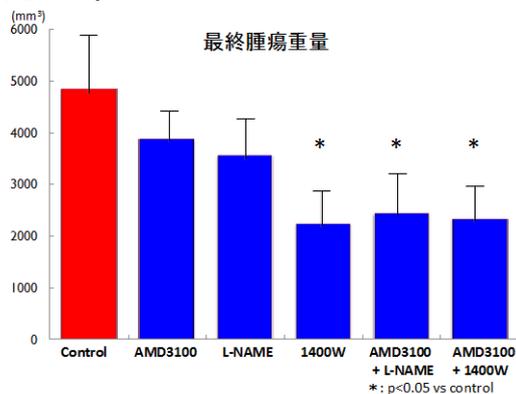
3. 研究の方法

ACCIM をヌードマウス皮下に移植し、腫瘍径が 10mm になった時点で(a)PBS (コントロール)、(b)AMD3100 (CXCR4 拮抗剤)、(c)L-NAME (NOS 阻害剤)、(d)1400W (iNOS 阻害剤)、(e)AMD3100+L-NAME、(f)AMD3100+1400W による腹腔内投与を連日行った。5 週目に投与を中止し、各群 9 匹のうち 5 匹を屠殺し、組織を摘出した。

- (1) 各種薬剤の腫瘍抑制効果を比較検討した。
- (2) 腫瘍組織の iNOS、eNOS、CXCR4 発現および各種薬剤投与下の変化を免疫組織学染色およびウエスタンブロット法で検討した。
- (3) 各種薬剤の腫瘍組織へのアポトーシス効果を TUNEL 法にて比較検討した。
- (4) 腫瘍間質における MVD (微小血管密度)の比較を行った。
- (5) 肺転移の有無について検討した。

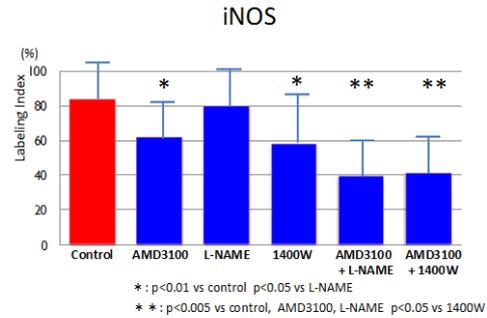
4. 研究成果

(1) (b)、(c)、(d)、(e)群で腫瘍増殖は(a)群に比較してそれぞれ 20、27、54、50、52%抑制された。

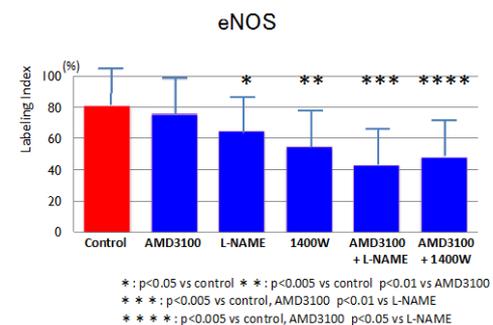


(図 1)

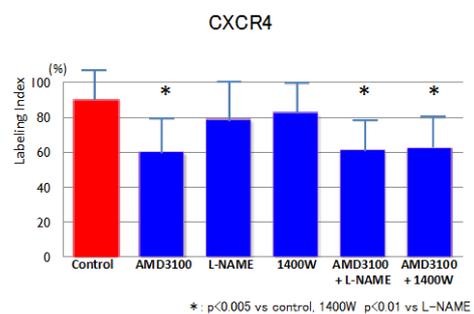
(2) 免疫組織化学染色が(a)群と比較して(e)、(f)群は腫瘍細胞における iNOS、eNOS、CXCR4 の発現が減少した(図 2-4)。ウエスタンブロットによる検討においてが、(a)群と比較して(d)、(e)、(f)群の iNOS、CXCR4 の発現が減少した。



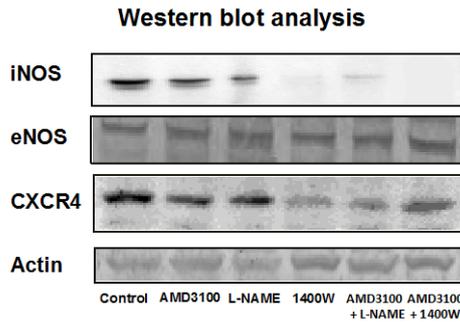
(図 2)



(図 3)

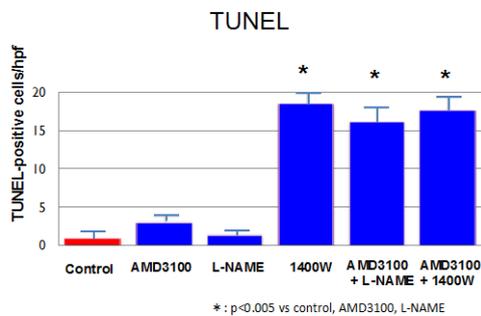


(図 4)



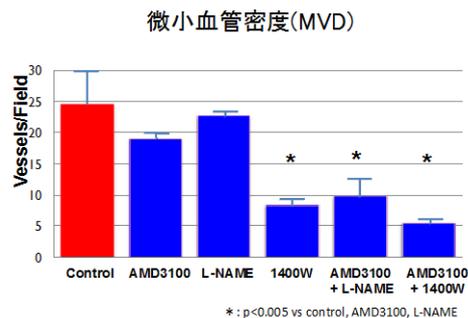
(図 5)

(3) TUNEL 法ではアポトーシスの増加を認めた。



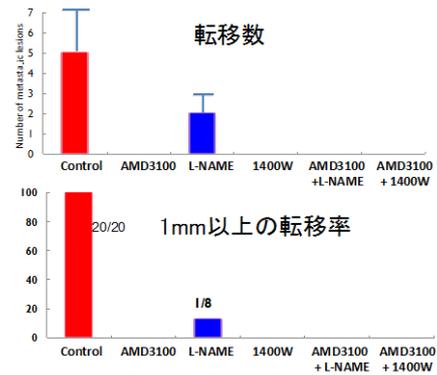
(図 6)

(4) 腫瘍間質における MVD は(a)、(b)、(c)群に比較して(d)、(e)、(f)群において有意に減少を認めた。



(図 7)

(5) 肺転移に関しては(a)、(c)群において 4/4 匹に転移を認め、(b)、(d)、(e)、(f)群には認めなかった。



(図 8)

上記の結果より1400WやAMD3100+L-NAMEの併用療法はアポトーシスを誘導し、ACCIMにおける腫瘍の血管新生や増殖を阻害すること、さらにCXCR4は転移、iNOSは腫瘍増殖および転移に関連する因子であ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)

- Ohtsu N, Takaoka K, Segawa E, Hashitani S, Noguchi K, Kishimoto H, Urade M. Antitumor effects of inhibitors of nitric oxide synthase or cyclooxygenase-2 on human KB carcinoma cells overexpressing COX-2. *Oncol Rep*, 査読有, 24, 2010, 31-36, DOI:10.3892/or_00000825

[学会発表] (計 3 件)

- Takaoka K, Hidaka S, Hashitani S, Yamamura M, Segawa E, Zushi Y, Noguchi K, Kishimoto K, Urade M. Effect of NOS inhibitors and CXCR4 antagonist on tumor growth and metastasis of human adenoid cystic carcinoma xenografted into nude mice. 20th International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery (2011.11.1-4, Santiago, Chile)
- 日高沙也香、橋谷 進、頭司雄介、田中徳昭、高岡一樹、浦出雅裕. 高転移能を有するマウス未分化癌に対するCXCR4拮抗剤とNOS阻害剤の腫瘍増殖および転移抑制効果. 第64回日本口腔科学会学術集会 (2010. 6. 24-25, 札幌)
- Hashitani S, Hidaka S, Segawa E, Tanaka N, Takaoka K, Urade M. Effect of nitric oxide synthase (NOS) inhibitor and CXC chemokine receptor-4 (CXCR4)

R4) antagonist in a xenograft mouse model and neck cancer. The 4th World Congress of International Federation of Head and Neck Oncologic Societies (2010.6.16-19, Seoul, Korea)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高岡 一樹 (TAKAOKA KAZUKI)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：60373122

(2) 研究分担者

浦出 雅裕 (URADE MASAHIRO)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号：70104883

(3) 連携研究者

()

研究者番号：