

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592227

研究課題名(和文)炎症性サイトカイン抑制による肉腫の増殖・転移抑制

研究課題名(英文) Regulation of metastatic ability and proliferation ability of sarcoma cell by inhibition of inflammatory cytokine.

研究代表者

安田 剛敏 (YASUDA, TAKETOSHI)

富山大学・大学病院・講師

研究者番号：20377302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：骨軟部肉腫の治療に関わる候補炎症性サイトカインとして、miRNA arrayを用いた発現解析によってIL-12、IL-18の関与が示唆された。転移機能の解析を並行し行うことができ、骨軟部肉腫株での研究で分子標的薬の使用によって、低濃度では腫瘍細胞の遊走能、浸潤能および血管内皮細胞への接着能の抑制によって転移を抑制することができる。また、高濃度では腫瘍細胞の増殖能自体を抑制していた。

研究成果の概要(英文)：Both IL-12 and IL-18, for as candidate inflammatory cytokine concerned with a treatment of bone soft part sarcoma, were suggested by miRNA array. These results lead the following: 1) therapeutic addition depending on condition of tumor, 2) relationships between sarcoma cell and host environment, and 3) degradation of "accompaniment fastness" by tumor resection. Furthermore, we were able to do analysis of metastatic mechanisms by miRNA array at the same time. The metastatic formations is inhibited by regulations of migration ability, invasion ability of sarcoma cell, and adhesion ability to a vascular endothelial cells in low concentration of molecular target drug. On the other hand, the ability of sarcoma cells was inhibited in high concentration of molecular target drug. These results might contribute to the control of metastatic formation.

研究分野：骨軟部腫瘍学

キーワード：骨軟部腫瘍 炎症性サイトカイン 転移機能 免疫機能 手術

1. 研究開始当初の背景

肉腫は自律性増殖という局所的問題に加え、転移という全身的問題が未だ解決されていない。この問題点を解決すべく、手術療法、化学療法および放射線療法などが行われているが、これらの治療に対し効果が認められない場合はさらなる治療手段がないことが現状である。ゆえに、これらに加わる新たな観点からの治療法を開発、確立することが必須である。これまでに我々は、肉腫の制圧を目的とし、一連の研究を行ってきた。マウス自然発生の未分化肉腫細胞 (RCT) から分離、樹立した転移能の異なる高肺転移株 (high metastatic clone of RCT; HM-RCT) と低肺転移株 (low metastatic clone of RCT; LM-RCT) を用いて、その転移能を規定する因子として、ラミニンなどの細胞外マトリックスへの接着能および浸潤能が問題であることを明らかにした。その結果を元に、転移臓器の線維芽細胞と肉腫細胞の相互関係によるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP-2, 9) が転移を促進すること、血管内皮細胞と肉腫細胞の相互関係による炎症性サイトカインであるインターロイキン-1 (IL-1) が転移を促進することを明らかにし、すでに報告している。さらに、肉腫細胞の血管新生において血管内皮増殖因子 (VEGF) と接着因子との関連を明らかにしてきた。以上の結果より、局所の炎症が肉腫の腫瘍増大や転移形成に促進的に働くため、それらの因子を調節することにより、肉腫の治療に有用であると考えられる。実際に、我々の臨床研究では、腫瘍患者の血中 CRP 濃度が腫瘍進展と患者の生存率に關与していることを報告している。

癌と炎症に関しては、一部の癌で発癌や癌の進展への関与が明らかにされ、すでにシクロオキシナーゼ-2 (COX-2) 阻害薬などは臨床応用されている。そのメカニズムは、VEGF を介した腫瘍血管新生阻害や腫瘍細胞の遊走能の低下などと報告されている。近年、炎症

性サイトカインである IL-18 の抑制による大腸がんや悪性黒色腫の腫瘍増殖抑制および転移抑制作用が報告されたが、未だ不明な点も多く、炎症性サイトカインの肉腫に関する作用は我々の報告以外にはほとんどない。

以上の国内外の報告と我々の研究成果より、炎症性サイトカインが肉腫の進展や転移形成に関して重要な役割を演じると考えた。すなわち、炎症性サイトカイン (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 など、特に IL-18) を阻害し、肉腫細胞単独または肉腫と宿主の環境との相互作用により、抗腫瘍作用を誘導できるという考えに到った。また、この考えに到った理由としては、臨床において肉腫を手術や放射線で治療した際に、急速な転移巣の出現や増大を見ることがある。その原因についてはいまだ明らかではないが、腫瘍切除による“付随抵抗性”の低下であり、治療後早期であることが多いと考えている。これを防ぐためにも診断後および術後早期からの治療が必要であるが既存の化学療法では副作用が多く、より安全かつ確実な治療が必要であると実感している。

2. 研究の目的

軟部肉腫に対する、炎症性サイトカイン抑制療法により、肉腫の増殖と転移を制御することである。炎症がある種の癌腫で発癌や転移形成の促進に作用すると報告されていることと我々の知見より、炎症性サイトカインの制御によって、肉腫の最大の問題である転移を抑制しえるという仮説に達した。そこで、肉腫での炎症性サイトカインを制御する因子とその抗腫瘍作用の機序を解明し、転移抑制の新たな治療法の可能性を立証する。

3. 研究の方法

転移能の異なる軟部肉腫細胞を用いて、miRNA array を用いた発現プロファイリングを行う。発現が上昇もしくは低下している miRNA の中で、炎症性サイトカインに關与し

ていると考えられる候補 miRNA を同定する。

In vitro では、抑制すべき炎症性サイトカインの siRNA transfection によりその細胞動態を把握する。また、宿主側の細胞として各種血管内皮細胞との混合培養による相互作用を検討する。

In vivo では、抗炎症性サイトカインによる腫瘍単独および腫瘍と宿主の相互作用を生態に近く再現することによって、抗腫瘍効果を検討する。

4 . 研究成果

骨軟部肉腫の治療に関わる候補炎症性サイトカインとして、miRNA array を用いた発現解析によってインターロイキン-12 (IL-12)、インターロイキン-18(IL-18)の関与が示唆された。これらの知見によって、1) 腫瘍の病勢に応じた治療の追加、2) 肉腫と宿主との相互関係の把握、3) 腫瘍切除による“付随抵抗性”の低下の病態把握といった研究の広がりをもち、今後の臨床応用への基礎となり、実際の臨床への応用を進めていく予定である。これらの研究内容のデータがまとまりつつ学会発表や論文という形で発信していく予定である。また、この知見を踏まえ炎症性サイトカインの抑制作用をより強くするために、腫瘍温熱療法の臨床研究を複数科ですで行っている。

さらに、miRNA array を用いた発現解析によって、転移機能の解析を並行し行うことができた。骨軟部肉腫株での研究で分子標的薬の使用によって、低濃度では腫瘍細胞の遊走能、浸潤能および血管内皮細胞への接着能の抑制によって転移を抑制することができうる。また、高濃度では腫瘍細胞の増殖能自体を抑制していた。現在、これらのデータを英語論文として執筆中であり、投稿予定である。

また、研究機関中に様々な症例を経験し、それらの特徴を詳細に検討し論文という形で報告した。

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 13 件)

Suzuki K, Yasuda T, Nagao K, Hori T, Watanabe K, Kanamori M, Kimura T.、Metastasis of gastrointestinal stromal tumor to skeletal muscle: a case report.、Journal of Medical Case Reports、8 巻、2014、256、査読有、DOI:10.1186/1752-1947-8-256

Suzuki K, Yasuda T, Hori T, Oya T, Watanabe K, Kanamori M, Kimura T.、Pleomorphic hyalinizing angiectatic tumor arising in the thigh: A case report.、Oncology Letters、7 巻、2014、1249-1252、査読有、DOI:10.3892/o1.2014.1883

Suzuki K, Yasuda T, Hori T, Watanabe K, Kanamori M, Kimura T.、An intraosseous malignant peripheral nerve sheath tumor of the lumbar spine without neurofibromatosis: Case report and review of the literature.、Oncology Letters、7 巻、2014、1965-1969、査読有、DOI:10.3892/o1.2014.1987

Kanamori M, Yasuda T, Nogami S, Suzuki K, Hori T.、DNA copy number alterations in pleomorphic leiomyosarcoma: A case report.、Oncology Letters、7 巻、2014、1847-1850、査読有、DOI:10.3892/o1.2014.2030

Yasuda T.、Hori T.、Suzuki K.、Hachinoda J.、Matsushita I.、Ito Y.、Kanamori M.、Kimura T.、Extracapsular wide resection of a femoral neck osteosarcoma and its reconstruction using a pasteurized autograft-prosthesis composite: A case report.、Oncology Letters、6 巻、2013、1147-1151、査読有、DOI:10.3892/o1.2013.1503

Nagao K.、Suzuki K.、Yasuda T.、Hori T.、Hachinoda J.、Kanamori M.、Kimura T.、

Cutaneous angiosarcoma of the buttock complicated by severe thrombocytopenia: A case report.、Molecular and Clinical Oncology、1 巻、2013、903-907、査読有、DOI:10.3892/mco.2013.141

Kanamori M., Yasuda T., Hori T., Suzuki K.、Giant invasive sacral schwannoma showing chromosomal numerical aberrations [-14,+18,+22].、Asian Spine Journal、7 巻、2013、227-231、査読有、DOI:10.4184/asj.2013.7.3.227

Yasuda T., Hori T., Suzuki K., Hachinoda J., Matsushita I., Ito Y., Kanamori M., Kimura T.、Extra-capsular wide resection of the femoral neck osteosarcoma and its reconstruction using pasteurized autograft-prosthesis composite.、Oncology Letters、6 巻、2013、1147-1151、査読有、DOI:10.3892/ol.2013.1503

Nagao K., Suzuki K., Yasuda T., Hori T., Hachinoda J., Kanamori M., Kimura T.、Cutaneous angiosarcoma of the buttock complicated by severe thrombocytopenia: A case report.、Molecular and Clinical Oncology.、1 巻、2013、903-907、査読有、DOI:10.3892/mco.2013.141

Hori T., Yasuda T., Suzuki K., Kanamori M., Kimura T.、Skeletal metastasis of carcinoid tumors: Two case reports and review of the literature.、Oncology Letters、3 巻、2012、1105-1108、査読有、DOI:10.3892/ol.2012.622

Kawaguchi S., Tsukahara T., Ida K., Kimura S., Murase M., Kano M., Emori M., Nagoya S., Kaya M., Torigoe T., Ueda E., Takahashi A., Ishii T., Tatezaki S., Toguchida J., Tsuchiya H., Osanai T., Sugita T., Sugiura H., Ieguchi M., Ihara K., Hamada K., Kakizaki H., Morii T.,

Yasuda T., Tanizawa T., Ogose A., Yabe H., Yamashita T., Sato N., Wada T.、SYT-SSX breakpoint peptide vaccines in patients with synovial sarcoma: A study from the Japanese Musculoskeletal Oncology Group.、Cancer Science、103 巻、2012、1625-1630、査読有、DOI:10.1111/j.1349-7006.2012.02370.x

Yasuda T., Hori T., Suzuki K., Kanamori M., Nogami S., Yahara Y., Kimura T.、Extraskeletal myxoid chondrosarcoma of the thigh with a t(9;17) translocation.、Oncology Letters、3 巻、2012、621-624、査読有、DOI:10.3892/ol.2011.526

Kanamori M., Suzuki K., Yasuda T., Hori T.、CD99-positive soft tissue sarcoma with chromosomal translocation between 1 and 16 and inversion of chromosome 5.、Oncology Letters、3 巻、2012、1213-1215、査読有、DOI:10.3892/ol.2012.641

〔学会発表〕(計 19 件)

二川隼人, 安田剛敏、大腿骨遠位部軟骨肉腫に対する膝関節包外切除を施行した 1 例、第 47 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014 年 7 月 17 日、18 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

大西慎太郎, 安田剛敏、下垂足を呈した膀胱癌の梨状筋転移および坐骨神経浸潤の 1 例、第 47 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014 年 7 月 17 日、18 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

安田剛敏、四肢発生脂肪系腫瘍における染色体分析の有用性の検討、第 47 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014 年 7 月 17 日、18 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

安田剛敏、転移性胸椎腫瘍の術前神経機能に影響を与える因子の検討、第 47 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014 年 7 月 17 日、18 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

金森昌彦, 安田剛敏、培養ヒト骨肉腫細胞に対するアカメガシワ(Mallotus japonicus)成分の抗腫瘍効果について、第 47 回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014 年 7 月 17 日、18 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

鈴木賀代, 安田剛敏、腰椎に発生した骨原発悪性末梢神経鞘腫の 1 例、第 47 回

日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014年7月17日、18日、大阪国際会議場（大阪府大阪市）

鈴木賀代、安田剛敏、進行性軟部肉腫に対するパゾパニブの治療効果と有害事象、第47回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014年7月17日、18日、大阪国際会議場（大阪府大阪市）

渡邊健太、安田剛敏、胸骨骨腫瘍に対して温熱処理骨を用いた再建を行った2例、第47回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014年7月17日、18日、大阪国際会議場（大阪府大阪市）

渡邊健太、安田剛敏、四肢発生の骨巨細胞腫の局所再発に關する臨床所見の特徴、第47回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会、2014年7月17日、18日、大阪国際会議場（大阪府大阪市）

安田剛敏、脂肪腫の治療成績と問題点、第122回中部日本整形外科災害外科学会、2014年4月11日、12日、岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市）

鈴木賀代、安田剛敏、四肢発症の神経鞘腫の治療成績と問題点、第122回中部日本整形外科災害外科学会、2014年4月11日、12日、岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市）

渡邊健太、安田剛敏、片開き式頸椎椎弓形成術を用いた硬膜内頸髄腫瘍の治療経験、第122回中部日本整形外科災害外科学会、2014年4月11日、12日、岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市）

Yasuda T.、Extra-capsular wide resection of femoral neck osteosarcoma and its reconstruction using a pasteurized autograft-prosthesis composite.、International society of Limb salvage 17th General Meeting、2013年9月11日～13日、ポローニャ（イタリア）

Yasuda T.、Reconstruction using the pasteurized autografting technique for malignant bone tumors.、International society of Limb salvage 17th General Meeting、2013年9月11日～13日、ポローニャ（イタリア）

安田剛敏、膝関節を温存し、良好な機能を得た脛骨近位骨肉腫の1例、第5回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会、2013年6月20日～22日、札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）

安田剛敏、皮質骨欠損を伴った骨腫瘍に対する生体内吸収性骨接合材を用いた治療経験、第120回中部日本整形外科災害外科学会、2013年4月5日、6日、和歌山県民文化会館（和歌山県和歌山市）

安田剛敏、パズツール処理骨を用いた骨腫瘍の治療経験、第9回関節外科懇話会、2012年11月18日、福井済生会病院（福井県福井市）

安田剛敏、転移性胸椎腫瘍の神経機能に

影響を与える因子と機能予後、第45回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会（招待講演）、2012年7月14日、名鉄トヤマホテル（富山県富山市）

安田剛敏、当科における骨軟部腫瘍診療の実際、富山県整形外科医会学術講演会（招待講演）、2012年7月4日、東京国際フォーラム（東京都千代田区）

〔図書〕（計 2 件）

安田剛敏、金森昌彦、西本 裕、大西冬実、奥野和子、医歯薬出版、運動器疾患で手術を受ける患者の看護（第2版）

講義から実習へ高齢者と成人の周手術期看護 5、2014、34

安田剛敏、鈴木賀代、メディカ出版、オペナーシング 2014年29巻8号これでサクサク丸わかり！保存版 消化器外科・整形外科の疾患・手術早覚え MY オペノート・頸椎～腰椎、2014、724-729(4)

〔その他〕

富山大学医学部整形外科ホームページ

http://utomir.lib.u-toyama.ac.jp/dspace/bitstream/10110/13090/1/37_03-28.pdf

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安田 剛敏 (YASUDA TAKETOSHI)
富山大学・大学病院・講師
研究者番号：20377302

(2) 研究分担者

金森 昌彦 (KANAMORI MASAHIKO)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授
研究者番号：20204547

鈴木 賀代 (SUZUKI KAYO)
富山大学・大学病院・医員
研究者番号：20456388

堀 岳史 (HORI TAKESHI)
富山大学・大学病院・医員
研究者番号：30401847

(削除：平成26年3月18日)