

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：15301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H06992

研究課題名(和文) 痛覚神経におけるMidkineシグナルが口腔がんの増大、転移に与える影響

研究課題名(英文) Midkine promotes oral cancer bone pain and progression

研究代表者

奥井 達雄 (Okui, Tatsuo)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：40610928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト口腔正常組織と口腔癌組織切片におけるMidkine発現を免疫染色により検討すると口腔癌組織においてMidkine発現が増加していた。Midkine阻害薬を癌骨破壊モデルマウスに投与すると非投与マウスと比較し疼痛閾値が減少した。口腔癌細胞が産生するMidkineは癌性疼痛を誘発することが示唆された。軟エックス線写真撮影よりMidkine阻害薬は骨髄内で口腔癌細胞株の骨破壊性の増大を抑制することが明らかになった。マウス全骨髄細胞を採取しビタミンD3、MCSFで刺激すると破骨細胞が誘導される。これに対してMidkine阻害薬を添加すると破骨細胞形成が著名に抑制された。

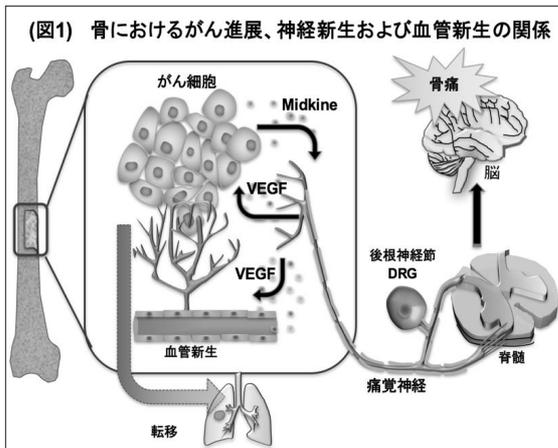
研究成果の概要(英文)：we studied cancer bone pain in an intratibial mouse xenograft model that employs midkine positive human oral cancer cells. Mice intratibially injected with midkine positive oral cancer cells SAS developed characteristic osteolytic lesions on X-ray photograph. Midkine antagonist iMDK dramatically reduced cancer bone pain and progression of cancer cells in bone in mouse model. Midkine antagonist iMDK dramatically suppressed osteoclast differentiation from bone marrow cells via vitamin D3 and MCSF stimulation.

研究分野：癌骨破壊

キーワード：癌性骨痛

## 1. 研究開始当初の背景

Midkine は約 13kDa の分泌タンパクで 2 つのドメインにより構成され、受容体型タンパク質チロシンフォスファターゼ z (PTPz), Syndecan, low density lipoprotein receptor-related protein (LRP) を受容体とする。Midkine は腫瘍組織において高発現し、腫瘍の進展を促進することが報告されている。また Midkine は PTPz, LRP, ALK, Syndecan いずれの受容体からも Src を介し、PI3K を活性化することで神経分化に寄与することが報告されている。しかしながら Midkine シグナルが神経新生、神経興奮を介し、がん細胞へ与える影響は全く検討されていない。申請者は坐骨神経を結紮切断した除神経マウスでは正常マウスとくらべ、がんの脛骨骨髓から肺への転移が抑制されることを見出した。また Midkine 高発現がん細胞培養上清が知覚神経軸索伸長を促進することを見出した。近年口腔がん細胞に Midkine が高発現することが報告されており、このような背景から、がん細胞が産生する Midkine が知覚神経を介してがんの進展、増大を促進している可能性が示唆される(図 1)。申請者は新規 Midkine 阻害物質(iMDK)を用い口腔がん増大における神経新生における Midkine シグナルを検討し、Midkine を標的とした分子標的治療法の開発を目指す。



## 2. 研究の目的

本研究の特色は口腔がん細胞が産生する Midkine による神経新生を介したがんの進展、増大に対する治療法の確立である。

## 3. 研究の方法

Midkine シグナルが、がん細胞の増殖ならびに知覚神経新生、がん血管新生に及ぼす影響、メカニズムを新規 Midkine 選択的阻害物質 iMDK ならびに midkine ノックアウト細胞を用いることで明らかにし、口腔がん新規治療法の可能性を追求する。in vitro にて各種がん細胞、知覚神経細胞、血管内皮細胞における Midkine ならびに Midkine 受容体発現を評価し iMDK の効果を検討する。がん細胞に対しては iMDK による増殖抑制機構の検討を行い、神経細胞に対しては、軸索伸長能ならびに  $Ca^{2+}$  取り込みを指標とした細胞興奮に

与える影響を検討する。マウス皮下腫瘍ならびに骨髓内腫瘍モデルを作成し、iMDK の抗腫瘍効果ならびに生体内での神経、血管の伸長に与える影響を検討する。

## 4. 研究成果

ヒト口腔正常組織と口腔癌組織切片における Midkine 発現を免疫染色により検討すると口腔癌組織において Midkine 発現が増加していた。Midkine 阻害薬を癌骨破壊モデルマウスに投与すると非投与マウスと比較し疼痛閾値が減少した。口腔癌細胞が産生する Midkine は癌性疼痛を誘発することが示唆された。軟エックス線写真撮影より Midkine 阻害薬は骨髓内で口腔癌細胞株の骨破壊性の増大を抑制することが明らかになった。マウス全骨髓細胞を採取しビタミン D3, MCSF で刺激すると破骨細胞が誘導される。これに対して Midkine 阻害薬を添加すると破骨細胞形成が著明に抑制された。

## 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 11 件)

Morisawa Ayaka, Okui Tatsuo, Shimo Tsuyoshi, Ibaragi Soichiro, Okusha Yuka, Ono Mitsuaki, Nguyen Thi Thu, Hassan Nur Mohammad, Sasaki Akira. Ammonium tetrathiomolybdate enhances the antitumor effects of cetuximab via the suppression of osteoclastogenesis in head and neck squamous carcinoma. International Journal of Oncology. 52. 2018, 989-999. 査読有り

Obata K, Shimo T, Okui T, Matsumoto K, Takada H, Takabatake K, Kunisada Y, Ibaragi S, Yoshioka N, Kishimoto K, Nagatsuka H, Sasaki A. Role of Neurokinin 3 Receptor Signaling in Oral Squamous Cell Carcinoma. Anticancer Research. Vol37. 2017, 6119-6123. 査読有り

Yoshida S, Shimo T, Murase Y, Takabatake K, Kishimoto K, Ibaragi S, Yoshioka N, Okui T, Nagatsuka H, Sasaki A. The Prognostic Implications of Bone Invasion in Gingival Squamous Cell Carcinoma. Anticancer Research. Vol38, 2018, 955-962. 査読有り

Kuroda H, Kurio N, Shimo T, Matsumoto K, Masui M, Takabatake K, Okui T, Ibaragi S, Kunisada Y, Obata K, Yoshioka N, Kishimoto K, Nagatsuka H, Sasaki A. Oral Squamous Cell Carcinoma-derived

Sonic Hedgehog Promotes  
Angiogenesis. Anticancer  
Research.Vol37.2017.6731-6737. 査読  
有り

Matsumoto Kenichi, Shimo Tsuyoshi,  
Kurio Naito, Okui Tatsuo,Ibaragi  
Soichiro,Kunisada Yuki, Obata  
Kyoichi,Masui Masanori,Pai  
Pang,Horikiri Yuu,Yamanaka  
Nobuyuki,Takigawa Masaharu, Sasaki  
Akira Low-intensity pulsed ultrasound  
stimulation promotes osteoblast  
differentiation through hedgehog  
signaling Journal of Cellular  
Biochemistry. Vol4,2018,4352-4360. 査  
読有り

Takada Hiroyuki,Ibaragi Soichiro,  
Eguchi Takanori, Okui Tatsuo, Obata  
Kyoichi, Masui Masanori, Morisawa  
Ayaka, Takabatake Kiyofumi, Kawai  
Hotaka, Yoshioka Norie, Hassan Nur  
Mohammad Monsur, Shimo Tsuyoshi,  
Hu Guo-Fu,Nagatsuka Hitoshi,Sasaki  
Akira. Semaphorin 4D promotes bone  
invasion in head and neck squamous  
cell carcinoma. International Journal  
of Oncology Vol51,2017, 625-632. 査読  
有り

Hiasa Masahiro, Okui Tatsuo,Allette  
Yohance M.,Ripsch Matthew  
S.,Sun-Wada Ge-Hong, Wakabayashi  
Hiroyuki,Roodman G. David,White  
Fletcher A.,Yoneda Toshiyuki. Bone  
Pain Induced by Multiple Myeloma Is  
Reduced by Targeting V-ATPase and  
ASIC3. Cancer Research. Vol77. 2017.  
1283~1295. 査読有り

Masui M, Okui T, Shimo T, Takabatake  
K, Fukazawa T, Matsumoto K, Kurio N,  
Ibaragi S, Naomoto Y, Nagatsuka H,  
Sasaki A.Novel Midkine Inhibitor  
iMDK Inhibits Tumor Growth and  
Angiogenesis in Oral Squamous Cell  
Carcinoma.Anticancer Res. 2016,  
36(6):2775-81.PMID: 27272788. 査読有  
り

〔学会発表〕(計 7 件)

奥井達雄,日浅雅博,志茂 剛,Fletcher  
A White ,G. David Roodman ,佐々木朗,  
米田俊之. TRPV1 を通じて興奮した知  
覚神経は HGF 産生により骨内での  
がんの進展および骨からの二次転移を促  
進する.第 61 回(公社)日本口腔外科学会  
総会.2016 年.東京  
Tatsuo Okui, Masahiro Hiasa, Fletcher

White, G David Roodman, Toshiyuki  
Yoneda.Targeting TRPV1 on sensory  
neurons as a potential therapy for  
breast cancer in bone.アメリカ骨代謝学  
会 2016 年.アトランタ.USA.

Masahiro Hiasa, Tatsuo Okui, Jesu´s  
Delgado-Calle, Teresita Bellido, G  
David Roodman, Fletcher White, Lilian  
Plotkin, Toshiyuki Yoneda. Osteocytes  
Mediate Bone Pain Through Cell-Cell  
Communication with Sensory Neurons  
via Connexin 43. アメリカ骨代謝学会  
2016 年.アトランタ.USA

Tatsuo Okui, Masahiro Hiasa, Fletcher  
White, G David Roodman, Toshiyuki  
Yoneda.Neuronal HGF regulates  
breast cancer progression and bone  
pain induction. 44th European  
Calcified Tissue Society Congress. 2017  
年.オーストリア.

Masahiro Hiasa, Tatsuo Okui, Jesu´s  
Delgado-Calle, Teresita Bellido, G  
David Roodman, Fletcher White, Lilian  
Plotkin, Toshiyuki Yoneda.Bone  
pain-modifying actions of osteocytes  
via connexin43-mediated  
communications with sensory nerves  
44th European Calcified Tissue Society  
Congress.2017 年.オーストリア.

招待講演:

乳がん骨転移および骨からの二次転移に  
おける痛覚神経の関与. 第 18 回癌と骨病  
変研究会, 2016 年 11 月 東京  
癌性骨痛のメカニズム:第 19 回 ARCOCS  
セミナー, 2017 年 5 月 岡山.

〔図書〕(計 6 件)

局所性悪性骨破壊に対するパミドロネー  
ト機能性ナノ複合体を用いた標的治療  
(訳書). Bone Joint Research  
Update(BJRU), (61) 2016,December,  
国際医学出版.監修 折茂 肇, 著 奥井達  
雄 他.

インプラントに含有されたマグネシウム  
は末梢神経による CGRP 産生を誘導しラ  
ット骨折治療を促進する(訳書). Bone  
Joint Research Update(BJRU), (62)  
2016,December, 国際医学出版. 監修 折  
茂 肇, 著 奥井達雄 他.

臨床解剖学に基づいた comprehensive  
dental surgery. 医歯薬出版株式会社.  
2017. Aril. 岩永讓 編, 著 奥井達雄  
他.

口腔がん口腔支持療法 多職種連携によ  
るがん患者の口腔内管理. 永末書店.  
2017. July. 編集 曾我 賢彦 著 奥井達  
雄 他.

〔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

奥井 達雄 (OKUI, Tatsuo)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：40610928