

平成 21 年 6 月 18 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19592322

研究課題名（和文）抗血管新生遺伝子治療と低容量化学療法併用による口腔癌の血管新生阻害作用の増強

研究課題名（英文）Antiangiogenic gene therapy with low-dose chemotherapy enhances antitumor activity against oral cancer

研究代表者

大見 寧 (OMI YASUSHI)

神奈川歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：10318892

研究成果の概要：抗血管新生遺伝子治療単独群 [アンジオスタチン plasmid DNA (100 μ g)、エンドスタチン plasmid DNA (100 μ g)、NK4 plasmid DNA (100 μ g)] に比較し、CDDP(1.5mg/kg; 1週間に5回で3週間継続) 併用投与群において有意な腫瘍抑制効果を認めた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：口腔外科

科研費の分科・細目：歯科・外科系歯学

キーワード：口腔癌・遺伝子治療・アンジオスタチン・エンドスタチン・NK4・CDDP

1. 研究開始当初の背景

癌の増殖と血管新生との関連性がクローズアップされるようになってきた。口腔扁平上皮癌も様々な血管新生因子の過剰発現と血管新生抑制因子の欠如により、血管新生能が非常に高い癌と考えられている。そのため癌局所の血管新生を阻害することは口腔癌の増殖制御につながると考えられてきた。また化学療法剤を長期にわたって低用量で頻繁に投与するメトロノーム型投与法は、MTDを指標とした殺細胞型化学療法とは異なった、抗血管新生療法であると考えられてきた。

2. 研究の目的

口腔癌に対して標準的に使用される 5-FU や CDDP も低用量メトロノーム型に使用した場合に、血管新生抑制作用を示す薬剤として臨床的に有効性が確認されている。また、化学療法剤の低用量持続投与は、免疫系の賦活や癌細胞のアポトーシス誘導などの効果も認められていることから、抗血管新生遺伝子治療とメトロノーム型化学療法との併用治療

は口腔癌に対する新しいタイプの化学療法
の1つになると考え、その基礎的解析を行う
事を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 担癌マウスの作製

C3H/He マウス背部皮下に 5×10^6 cells のマウス
扁平上皮癌 SCC-VII細胞（リンパ節転移性
有）を移植し、担癌マウスを作製する。腫瘍
径が約 10mmとなった時点から治療を開始
する

(2) 治療群

I 群；抗血管新生遺伝子治療単独群（1週間
おきに3回投与）

アンジオスタチン plasmid DNA (100 μ g)

エンドスタチン plasmid DNA (100 μ g)

NK4 plasmid DNA (100 μ g)

II 群；化学療法剤投与単独投与群（1週間に
5回で3週間継続）CDDP(1.5mg/kg；ブリス
トルマイヤーズ)

III 群；抗血管新生遺伝子治療+CDDP

アンジオスタチン plasmid DNA (100 μ g) +

CDDP (1.5mg/kg)

エンドスタチン plasmid DNA (100 μ g) +

CDDP (1.5mg/kg)

NK4 plasmid DNA (100 μ g) + CDDP (1.5mg/kg)

(3) 評価方法：

- ① 腫瘍径の測定
- ② 肺転移の有無
- ③ 免疫組織学的解析

4. 研究成果

① 腫瘍増殖抑制効果

I 群およびII 群では無治療群と比較して有
意に、腫瘍増殖抑制効果は認められなかった。

III 群では I 群、II 群および無治療群と比較し
て、有意な腫瘍増殖抑制効果が認められた。

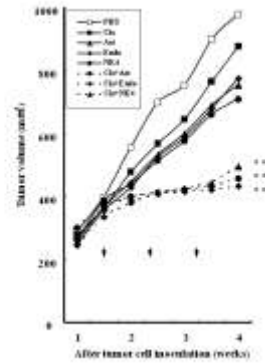


Figure 2

抗血管新生遺伝子による遺伝子治療と CDDP
の併用は抗腫瘍効果を相乗的に増強させる。
10, 17, 24 日目に angiostatin (Ast),
endostatin (Endo), and NK4 plasmid DNA 腫
瘍内に局所投与し、cisplatin (1.5mg/kg) は
遺伝子治療後、3 日間連続して腹腔内投与し
た。それぞれの群において、10 匹ずつのマ
ウスを使用した。* $P < 0.01$, versus PBS and
cisplatin (cis), ** $P < 0.05$, versus
antiangiogenic gene therapy alone groups.

② 腫瘍血管形成抑制効果

腫瘍組織の免疫組織学的解析から、III 群では
CD31 陽性な血管内皮細胞の明らかな減少が
みられたことから、抗血管新生遺伝子治療と
CDDP 併用の相乗効果が示唆された。

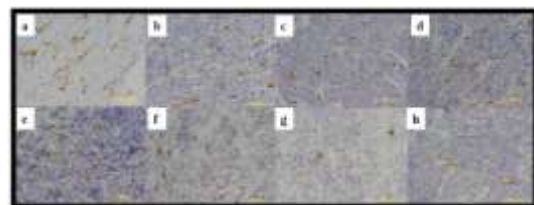


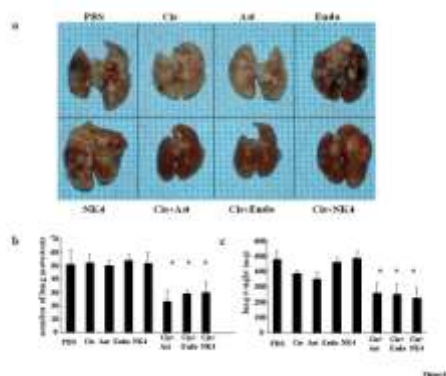
Figure 3

血管内皮細胞の免疫組織学的染色：PBS (a),
cisplatin (b), angiostatin alone (c),
endostatin alone (d), NK4 alone (e),

angiostatin with cisplatin (f), endostatin with cisplatin (g), and NK4 with cisplatin (h). (magnified 100X). Scale bars, 200 μ m. 腫瘍移植後 28 日目に切除を行い、抗 CD 31 モノクローナル抗体により免疫染色を行った。(i) それぞれの治療群における腫瘍局所の血管内皮細胞数を定量的に示した。* P < 0.01, versus PBS and cisplatin, ** P < 0.05, versus antiangiogenic gene therapy alone groups.

③ 肺転移抑制効果

肺転移はⅢ群において有意に抑制効果が認められた。以上から、血管新生抑制遺伝子治療と CDDP の併用療法は扁平上皮癌の治療に極めて有効である可能性が示唆された。

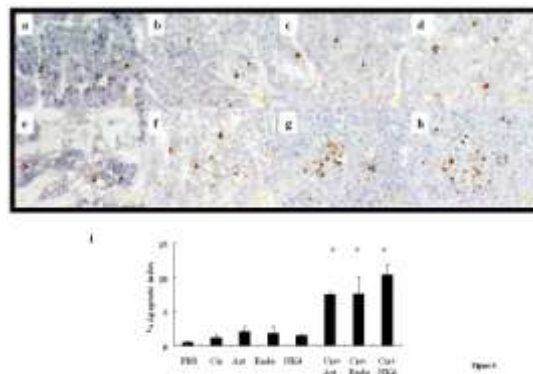


抗血管新生遺伝子による遺伝子治療と CDDP の併用は腫瘍の肺転移を有意に抑制する。図は PBS, cisplatin (Cis), angiostatin (Ast), endostatin (Endo), NK4, and combination of antiangiogenic gene therapy with cisplatin (a)。 それぞれの治療群における肺転移数をカウントし定量的に示した (b)。 * P < 0.05, versus PBS, cisplatin, and antiangiogenic gene therapy alone groups. それぞれの治療群における肺重量を測定し定量的に示した (c)。 * P < 0.05, versus PBS, cisplatin, and antiangiogenic gene therapy alone groups.

④ 腫瘍細胞のアポトーシス誘導効果

腫瘍組織の免疫組織学的解析 (TUNEL 染色) か

ら、Ⅲ群ではアポトーシスに陥った腫瘍細胞数が有意に増加していることから、抗血管新生遺伝子治療と CDDP 併用によるアポトーシス誘導の相乗効果が示唆された。



それぞれの治療群における腫瘍組織内のアポトーシス細胞の出現について。腫瘍移植後 28 日目に切除を行い抗 ssDNA ポリクローナル抗体による免疫染色を行った。それぞれ PBS (a), cisplatin (b), angiostatin alone (c), endostatin alone (d), and NK4 alone (e), angiostatin with cisplatin (f), endostatin with cisplatin (g), and NK4 with cisplatin (h) を示す。(magnified 200X). Scale bars, 50 μ m. (i) 腫瘍組織内にみられる ssDNA 陽性細胞 (アポトーシス細胞) をカウントし、定量的に示した。Data are shown as the mean \pm SD of three mice in each group. * P < 0.01, versus PBS, cisplatin, and antiangiogenic gene therapy alone groups.

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)

[学会発表] (計 1 件)

Goichi Matsumoto, Eiro Kubota and Yasuhiko Tabata: Antiangiogenic gene therapy combined with low-dose chemotherapy suppresses murine squamous cell carcinoma. First World Congress of the International

Academic of Oral Oncology. 17-20 May 2007,
Amsterdam, Netherlands.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大見 寧(OMI YASUSHI)
神奈川歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：10318892

(2) 研究分担者

李 宇錫(LEE USHAKU)
神奈川歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：90288085

松本剛一(MATSUMOTO GOICHI)
神奈川歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号：60199867

(3) 連携研究者

該当なし