

機関番号：10107

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790759

研究課題名（和文） アディポネクチンの肺癌転移抑制効果の検証

研究課題名（英文） Study of an anti-tumor activity of adiponectin in a mouse lung metastasis model

研究代表者

豊嶋 恵理（TOYOSHIMA ERI）

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：20466501

研究成果の概要（和文）：

A549 肺癌細胞株においてアディポネクチンの腫瘍増殖抑制効果を明らかとした。A549 細胞はアディポネクチン受容体を発現していたが、アディポネクチンによる A549 細胞増殖抑制効果は認められなかった。一方、GFP transgenic マウスの骨髄移植モデルを用いて、移植腫瘍に集積される骨髄由来細胞を評価したところ、アディポネクチン治療群の腫瘍内における骨髄由来細胞が減少していた。以上から、アディポネクチンの抗腫瘍効果は、骨髄由来細胞の集積阻害を介している事が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We used a tumor-bearing mouse model to evaluate an anti-tumor activity of adiponectin in lung cancer cells. Our results showed that both human and mouse adiponectin inhibited growth of A549 tumors. Next, we evaluated the expression levels of adiponectin receptor, AdipoR1 and AdipoR2 in A549 cells using RT-PCR assay. The assay revealed that A549 cells expressed both AdipoR1 and AdipoR2. Then, in vitro study, A549 cells were treated with adiponectin to study whether adiponectin suppresses cell proliferation of A549 cells. Cell proliferation assay showed that adiponectin did not suppress cell proliferation of the cells. After that, we used a mouse bone-marrow transplantation model to detect the bone-marrow derived cells (BMDCs) in xenograft tumors. Bone marrow cells from GFP-transgenic mice were transplanted to the irradiated mice, and A549 cells were implanted to the mice. GFP-labeled BMDCs decreased in adiponectin-treated tumors compared with control tumors.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：アディポネクチン、肺癌

1. 研究開始当初の背景

アディポネクチンは脂肪組織から分泌されるタンパクの1つとして発見された。アディポネクチンは抗糖尿病作用・抗動脈硬化作用を有するといわれているが、悪性腫瘍に対して抗腫瘍効果を認めることが報告されている。

アディポネクチンは、全長アディポネクチンおよび球状アディポネクチンの2種類のアイソトープが主に知られているが、肺癌に対するアディポネクチンの作用や抗腫瘍効果に関する研究や報告はこれまでに無い。

2. 研究の目的

アディポネクチンの肺癌に対する腫瘍増殖抑制効果を検証し、その機序を解明する。

In vivo 実験において、アディポネクチンの肺癌に対する抗腫瘍効果を検証する。

In vitro 実験で、アディポネクチンの肺癌細胞株へ及ぼす効果を検証する。

3. 研究の方法

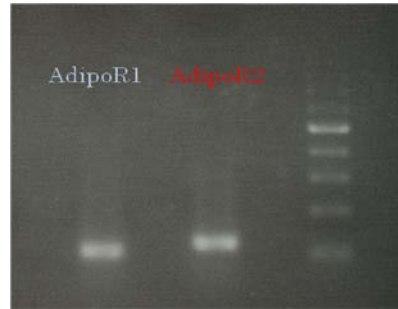
In vitro 実験で、A549 ヒト肺癌細胞株における Adiponectin 受容体発現を RT-PCR を用いて評価した。また、MTS assay を行い、アディポネクチン投与による A549 細胞の細胞増殖能の変化を検証した。

In vivo 実験では、6-7 週齢の ICR ノードマウスへ A549 細胞を移植し、移植 15 日後からマウスおよびヒトアディポネクチンを 10 日間、尾静脈注射で投与した。投与群・非投与群とで腫瘍体積を比較した。

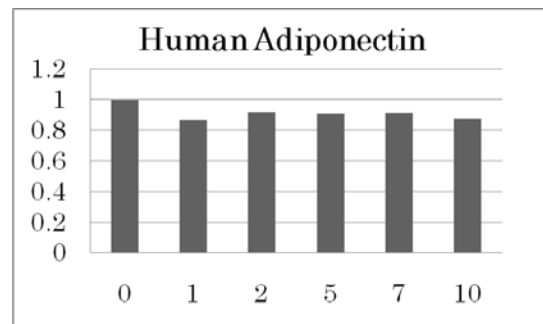
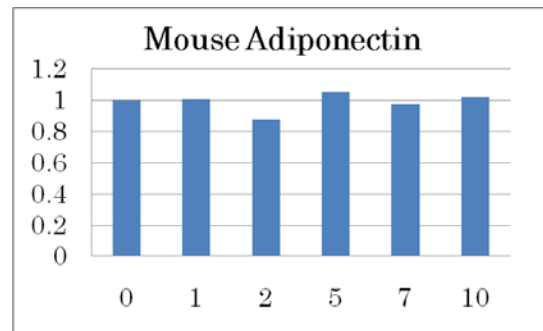
GFP マウス骨髄移植モデルでは、ドナーマウスに GFP transgenic マウスを用いた。また、レシピエントマウスには ICR ノードマウスを用いた。GFP マウスから取り出した骨髄細胞を放射線照射した ICR ノードマウスへ投与した。骨髄細胞生着後、移植マウスへ A549 細胞を皮下移植し、そのマウスへアディポネクチンを前述のように投与した。移植腫瘍を取り出し、腫瘍内に含まれる GFP 陽性骨髄由来細胞を評価した。また、CD31 の免疫染色を行って、腫瘍内に含まれる CD31 陽性細胞も評価した。

4. 研究成果

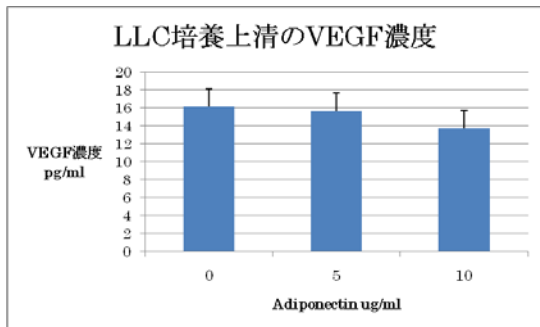
1) A549 細胞から RNA を抽出し、Adiponectin 受容体 (AdipoR1 および AdipoR2) の mRNA 発現を RT-PCR を行って評価した。A549 細胞において、AdipoR1, AdipoR2 の発現が認められた。



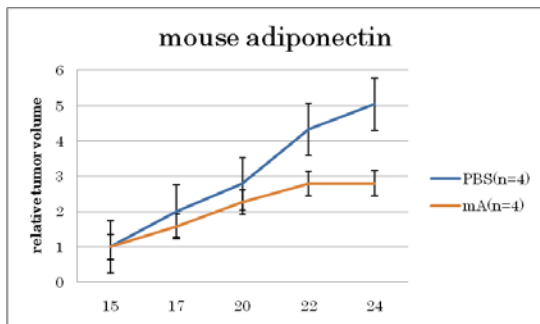
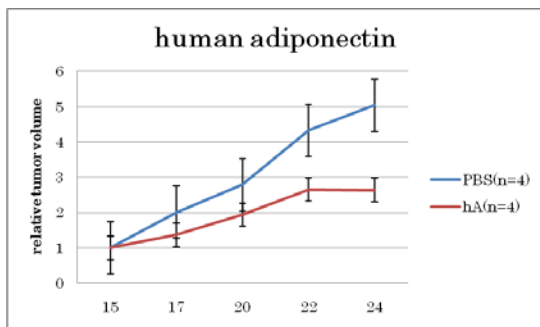
2) A549 細胞へ、ヒトアディポネクチンおよびマウスアディポネクチンを投与した。3 日間投与したのち、MTS assay を行って A549 細胞増殖能を評価した。A549 細胞へアディポネクチンを投与しても、細胞増殖に有意な変化は認められなかった。(横軸が投与濃度: ug/ml、縦軸が増殖能の比率を示す。)



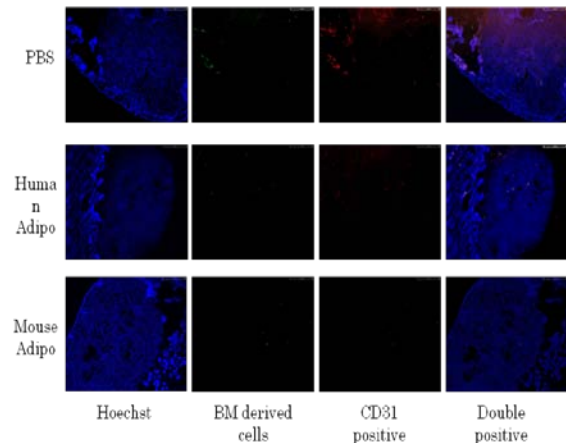
3) In vitro 実験で、LLC マウス肺癌細胞株へマウスアディポネクチンを投与し、培養上清中の VEGF 濃度を ELISA を用いて評価した。培養 LLC 細胞へアディポネクチンを投与し、3 日間培養した。アディポネクチンを投与しても、LLC 培養上清中に含まれる VEGF の濃度に変化は認められなかった。(横軸がアディポネクチン投与濃度、縦軸が VEGF 濃度を示す。)



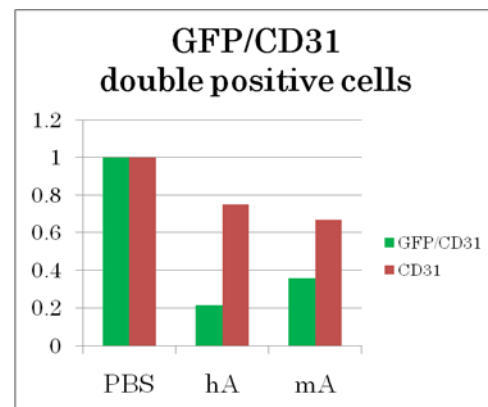
3)ヌードマウスへA549細胞を皮下移植し、それらマウスへアディポネクチンを10日間連日尾静脈注射で投与した。アディポネクチンを投与した群では、非投与群と比べて腫瘍体積が減少した。(横軸が日数、縦軸が腫瘍体積の比率を表す。)



4) GFP トランスジェニックマウスの骨髄をICRヌードマウスへ移植し、骨髄のみGFPで標識されたマウスモデルを作成した。そのマウスへA549細胞を移植し、アディポネクチンを投与した。アディポネクチンを投与したマウスから、肺癌腫瘍を取り出し、腫瘍中に含まれるGFP陽性細胞およびCD31陽性細胞を評価した。アディポネクチン投与群では、非投与群と比べてGFP陽性の骨髄由来細胞が減少していた。



また、腫瘍中に含まれるCD31陽性細胞およびGFP/CD31 double positiveの細胞数も減少していた。(hA:ヒトアディポネクチン、mA:マウスアディポネクチン。縦軸は細胞数の比率を表す。)



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0件)

[学会発表] (計3件)

- ① 奥村、豊嶋ら。アディポカインの非小細胞肺癌に対する腫瘍増殖抑制効果の検討。2008年。旭川。北海道腫瘍系分科会。
- ② 奥村、豊嶋ら。アディポカインの非小細胞肺癌細胞株に対する抗腫瘍効果の検討。2008年。北九州。肺癌学術講演会。
- ③ Okumura, Toyoshima, et al. Adiponectin inhibits the growth of non-small cell lung cancer cells and suppresses recruitment of bone-marrow-derived cells to the tumors in vivo. San

Francisco. 2009. IASLC

〔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
なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

豊嶋 恵理 (TOYOSHIMA ERI)
旭川医科大学・医学部・助教
研究者番号：2 0 4 6 6 5 0 1

(2) 研究分担者 なし
()

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号：