

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5月3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：2010～2011

課題番号：22800045

研究課題名（和文） 神経成長因子のがん増殖抑制作用とその機序解明に関する研究

研究課題名（英文） The antitumor effects of nerve growth factor on human cancer cells

研究代表者

高取 真吾 (TAKATORI SHINGO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：20368707

研究成果の概要（和文）：

ヒト由来固形腫瘍細胞増殖に対する神経成長因子 (NGF, nerve growth factor) の抗腫瘍効果に関する各種検討を行った結果、ヒト肝がん細胞 (HepG2) およびヒト線維肉腫細胞 (HT1080) 増殖において NGF の有意な増殖抑制効果が認められた。また、その機序として腫瘍新生血管の成熟化および血管周囲神経の分布を介した間接的作用が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Our present study demonstrated new findings that NGF markedly suppressed the growth of hepatic tumor cell (HepG2) and fibrosarcoma cell (HT1080) via the indirect effect, probably innervation or maturation of tumor neovasculature.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,260,000	378,000	1,638,000
2011年度	1,110,000	333,000	1,443,000
総計	2,370,000	711,000	3,081,000

研究分野：薬理学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学 応用健康科学

キーワード：神経成長・栄養因子、Nerve growth factor、がん新生血管、血管周囲神経、抗腫瘍効果

1. 研究開始当初の背景

がんの特徴的な脆くて漏出性の高い新生血管や不完全なリンパ管は、がんの増殖や転移に密接に関わっており、がん組織への血流量変化とがん増殖との間には相関関係が認められている (Nihei Y et al., *Jpn. J. Cancer Res.*, 1999., Hori K et al., *Eur. J. Cancer.*, 2003.). 近年、がん治療のターゲットとして種々シグナルに対する研究が進んでおり、中でも血管やリンパ管の新生や機能維持に

関与する血管内皮増殖因子 VEGF, vascular endothelial growth factor 阻害薬 (分子標的薬) は、大腸がんをはじめとする各種がんに対して使用されている。しかし、がんの種類や増殖の程度などにより十分な有効性が得られない症例や重篤な副作用が原因でその使用を中止せざるを得ない患者が少なくない

(Eremina V et al., *N. Engl. J. Med.*, 2008., Vaklavas C et al., *Oncologist.*, 2010.)。

一方、ラット腸間膜動脈の血管周囲神経を

実験的に損傷したモデルを用いた我々の検討において、神経成長・栄養因子である NGF, Nerve Growth Factor 処置により血管周囲神経が再分布し、再分布された神経が血管収縮および血管拡張機能を有することを明らかにした (Hobara N et al., *Neuroscience.*, 2006.)。そこで、血流調節に重要な平滑筋および血管周囲神経の分布が認められないがん新生血管 (Debbage PL et al., *J. Histochem. Cytochem.*, 1998., Chamary VL et al., *Colorectal. Dis.*, 2006.) に対して、NGF による血管周囲神経の分布を促進し、がん細胞への血流調節を制御することによりその増殖を抑制することが可能であると考え、本研究の着想に至った。

この仮説に基づく予備検討において、持続的な NGF 処置によりマウス腹部に移植したヒト前立腺がん細胞 (DU145) の増殖が著明に抑制され、生存率の有意な改善も認められるという画期的な知見を得ている。また、NGF によるがん細胞増殖抑制作用は、血管新生を促進することなく、NGF 処置中止後も継続して観察されることなどから、がん細胞への間接的作用に基づくものであること (Goda M et al., *J. Pharmaco. I Sci.*, 2010.)、さらにそのメカニズムの一部にがん新生血管に対する血管周囲神経の分布を介した作用が関与していることを示唆している。しかし、NGF による抗腫瘍効果の詳細なメカニズムおよびその他がん細胞に対する影響については、未だ明らかにできていない。

2. 研究の目的

現在までの研究成果をもとに、現状の課題点および今後解決すべき点について、以下に挙げる。

(1) DU145 細胞以外の各種がん細胞におい

ても NGF による抗腫瘍効果が確認できるか否か？

(2) NGF による抗腫瘍効果に関する詳細なメカニズム解明

(3) NGF によるがん新生血管への血管周囲神経分布に関する詳細な検討

(4) NGF により誘発される副作用および安全性の確認

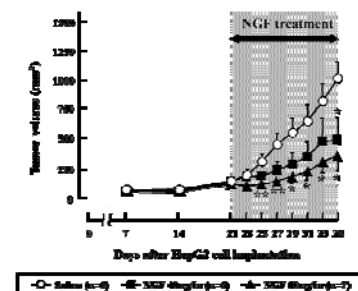
3. 研究の方法

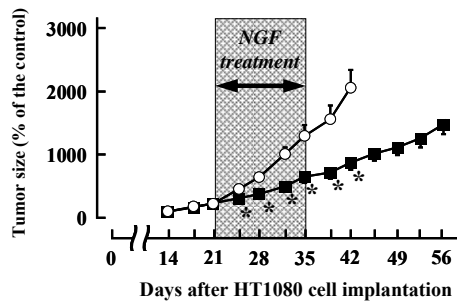
各種がん細胞増殖能に対する NGF の直接的な作用は、WST-8 アッセイを用いた *in vitro* 評価系において検討した。また、がん細胞を移植・増殖させたヌードマウスにおけるがん細胞増殖に及ぼす NGF 持続的皮下投与 (移植後 21 日目より開始、2 週間投与) の影響について解析した。また、新生血管への血管周囲神経分布の有無と分布密度の測定は、免疫組織化学的手法 (Hobara N et al., *Neuroscience.*, 2006.) を用いて検討した。分布した血管周囲神経の機能は、神経薬理学的手法を用いて組織血流量を測定することにより行った。また、全身血圧の測定は、tail cuff 法を用いて行った。

4. 研究成果

コントロール群における HepG2 および HT1080 腫瘍体積は、移植後 23 日目より経日的に増大し増殖が認められた。一方、NGF 投与群では、HepG2 および HT1080 腫瘍体積は有意に小さく、著明な増殖抑制効果が認められた (右図)。

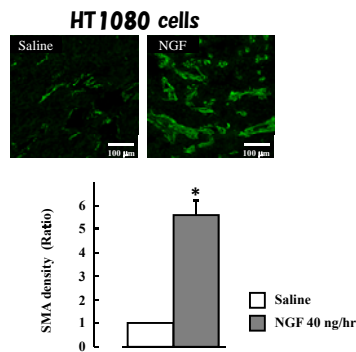
さらに、NGF の増殖抑制効果は、NGF 投与中止後も継続して





認められた (上図)。一方、*in vitro* における HepG2 および HT1080 細胞増殖に対しては、NGF は直接的な抑制効果を示さなかった。

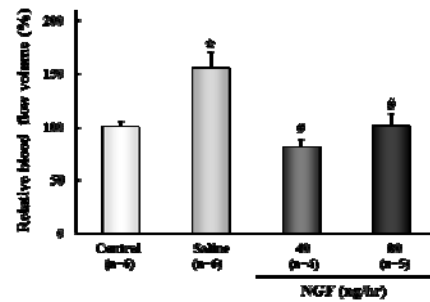
また、NGF を持続皮下投与後、腫瘍新生血管量および腫瘍内の血管平滑筋の変化について検討した結果、いずれのがん細胞移植マウスにおいてもコントロール群と比べて NGF 処置群において腫瘍内の血管平滑筋の著明な増加



が認められた (上図) が、腫瘍新生血管量の変化は観察されなかった。さらに、免疫組織化学的な検討において、NGF 投与群において腫瘍組織内の血管平滑筋の近傍に分布する血管周囲神経の存在が観察された (下図)。

さらに、NGF 投与群における HepG2 腫瘍周辺組織における血流量は、コントロール群と比べて有意に低下していた (下図) が、全身血圧は両群間において変化は認められなかった。

以上の結果より、HepG2 および HT1080 腫瘍増殖に対する NGF の抑制効果は、DU145 細胞腫



瘍において認められた NGF の増殖抑制効果と同様、その機序として腫瘍新生血管への血管周囲神経の分布を介した間接的作用が示唆された。本研究結果より、NGF に代表される神経分布促進薬は、腫瘍細胞を直接死滅させることに起因する正常細胞への細胞毒性・障害性がなく、さらには血管新生阻害薬において効果が認められないと言われている進行がんに対しても有効性が期待できる新カテゴリーの抗腫瘍薬として期待される。

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 5 件)

(1) 高取 真吾

ヒト肝臓がん細胞増殖に対する神経成長因子の抑制作用
第 39 回 薬物活性シンポジウム (福岡)
2011 年 11 月 21-22 日

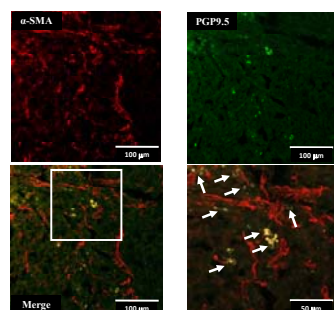
(2) Satoko Fukuhara

Nerve growth factor-induced tumor inhibition involves innervations and maturation of tumor neovasculature
Society for Neuroscience 41th Annual Meeting (Washington DC)
2011 年 11 月 12-16 日

(3) Shingo Takatori

The antineoplastic effects of nerve growth factor in mouse tumor growth
The 40th Annual Scientific Meeting of The Physiological Society of Thailand (Khon Kaen)
2011 年 5 月 2-4 日

(4) 普久原 聡子



前立腺腫瘍増殖に対する神経成長因子の抑制効果
第84回 日本薬理学会年会（横浜）
2011年3月23日

(5) 高取 真吾

Nerve growth factor の抗腫瘍効果とメカニズムの解明
第84回 日本薬理学会年会（横浜）
2011年3月22日

[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]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高取 真吾 (TAKATORI SHINGO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・
助教
研究者番号：20368707

(2) 連携研究者

川崎 博己 (KAWASAKI HIROMU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・
教授
研究者番号：60125151

橋川 (芳原) 成美 (HASHIKAWA-HOBARA
NARUMI)
岡山理科大学理学部・臨床生命科学科・
講師
研究者番号：30511159

合田 光寛 (GODA MITSUHIRO)
新潟大学・大学院医歯学総合研究科・助教
研究者番号：40585965