

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20380170

研究課題名（和文） 転移経路の異なる犬乳癌及び骨肉腫における転移関連因子の比較解析

研究課題名（英文） Comparative analysis on metastasis-associated molecules in malignant tumors with different metastatic routes such as canine mammary cancer and osteosarcoma

研究代表者

佐々木 伸雄（SASAKI NOBUO）

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号：60107414

研究成果の概要（和文）：主として腫瘍細胞株移植ヌードマウスモデルを用い、異なる移植部位による増殖／転移の差異について検討した。

骨肉腫では、同所移植（骨内移植）と異所移植（皮下移植）により、ヌードマウスにおける増殖や転移に大きな差があり、特に転移には ezrin の発現が大きく関与した。

一方、犬の乳癌に関しては、移植部位による差異は大きくなかったが、増殖、転移には、血管増殖因子や炎症関連因子 NF- κ B が大きく関与した。

研究成果の概要（英文）：

Difference in growth and metastasis was investigated using tumor a cell line-transplanted nude mice model receiving orthotopic and ectopic xenograft. In a canine osteosarcoma cell-xenografted model, growth and metastasis were significantly different depending on the xenografted site and ezrin expression was strongly related to metastasis in this mice model. In a canine mammary cancer model, there was no significant difference in the growth and metastasis depending on the xenografted sites, however VEGF (vascular endothelial growth factor) and NF- κ B (nuclear factor κ B) expressions were related to growth and metastasis in this mice model.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 20 年度	10,200,000	3,060,000	13,260,000
平成 21 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
平成 22 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学、臨床獣医学、外科、腫瘍学

キーワード：

犬骨肉腫、犬乳癌、細胞株、ヌードマウス、移植部位、増殖、肺転移

1. 研究開始当初の背景

(1) 従来 of ニューマウスへの細胞株移植における実験をもとに、リンパ行性転移、血管行性転移をする腫瘍を同所性、異所性に移植した場合、その局所環境によって転移、増殖能が異

なり、何らかの関連因子が同定できるのではないかと、という発想で、研究を考えた。

(2) 網羅的にその因子を解析し、将来の増殖転移抑制治療につながる因子の解析を当初の目的とした。

2. 研究の目的

- (1) 転移経路の異なる犬の骨肉腫、および犬乳癌の細胞株を用い、ヌードマウスにそれぞれ同所性（骨あるいは乳腺部）あるいは異所性（何れも皮下）に移植した後、その後の増殖能、転移能を観察する。
- (2) 局所で増殖した腫瘍組織に発現する関連因子を検索する。
- (3) それらの因子に対する拮抗薬が存在する場合、それらがこれらのヌードマウスモデルにおける腫瘍増殖、転移にどのような効果を示すかを検討する。

3. 研究の方法

- (1) 既に我々の研究室で樹立した骨肉腫と乳癌細胞のクローニングを行う。
- (2) これらの細胞株を移植し、その原発巣と転移巣における組織に対して cDNA マイクロアレーを行い、転移関連因子の検索を行う。
- (3) 各細胞株をヌードマウスの同所あるいは異所に移植する。
- (4) 転移、増殖関連の候補因子について、ウェスタンブロット、免疫組織化学、PCR といった手法でそれらの発現を確認する。
- (5) これらの有力な因子に関し、拮抗薬があればそれらを投与して増殖転移に対する影響を検討する。

4. 研究成果

- (1) 犬骨肉腫に関しては、HMPOS というクローン株を、犬乳癌に関しては、CHMp-5a, -13b という二つの異なる性質を持つクローン細胞株を得た。これらの移植によって発育した組織の cDNA 解析から、骨肉腫については、ezrin, 乳癌については、NF- κ B といった炎症関連因子が有力な候補因子と考えられた。
- (2) 犬乳癌に関しては、皮下移植と乳腺部移植による腫瘍動態の変化は見られなかった。そこで、以下のように増殖、転移関連の因子についての解析を進めた。
- (3) 犬の乳癌に関し、血行性とリンパ行性に関与すると考えられる、血管内皮増殖因子 (VEGF) -A と-C に関する発現状況を、移植によって発生した原発巣と転移巣について比較検討した。その結果、特に VEGF-A は腫瘍の悪性度、転移率と比較的良く相関して発現が増加する傾向が得られた。またそれに伴って、腫瘍組織内の血管数も増加した。
- (4) 一方、犬乳癌における炎症関連因子、NF- κ B は同様に腫瘍増殖ならびに転

移と相関して発現する傾向を示した。そこで、NF- κ B 拮抗薬を用いて *in vivo* でその効果を検討した結果、拮抗薬投与群では、明らかに増殖抑制、転移抑制が認められた。しかし、この薬剤の毒性が強いため、臨床応用は不可能と考えられた。

- (5) 同様の作用を有し、人でも様々な形で使用されているクルクミンに着目し、これを細胞株移植マウスに投与し、腫瘍の増殖、転移を検討した。その結果、増殖を有意に抑制しなかったが、転移に関しては有意に抑制した。今後さらに用量等を含めて検討する予定である。
- (6) 犬の骨肉腫に関しては、同所である脛骨に移植した場合、きわめて強い増殖と早期の転移が見られるのに対し、異所である皮下織に移植すると、転移は遅く、細胞株によっては、全く転移を生じなかった。
- (7) 転移に関連して、原発巣の ezrin は強く発現し、転移に関連していることが示唆された。しかし、転移巣では ezrin の発現は低下することから、転移巣での増殖には大きな役割を果たしていないものと推察された。
- (8) 以上の結果から、移植細胞株のモデルにおいては、移植部位により、腫瘍動態は異なること、またその部位におけるいずれかの分子の変化が、増殖、転移に関連する可能性が明らかとなった。

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 19 件)

現在 4 論文が投稿中であり、間もなくアクセプトされるものと期待しているが、まだこの研究内容に関するものはない。

〔学会発表〕(計 29 件)

- (1) Jaroensong, T. et al. Effect of transplantation sites on tumor growth, pulmonary metastasis and ezrin expression in canine osteosarcoma xenograft and clinical patients. 30th Annual Conference of the Veterinary Cancer Society, Oct 29, 2010, San Diego, USA
- (2) 上田綾子、他、イヌ骨肉腫細胞株における RANK/RANKL/OPG 発現と細胞移植モデルにおける骨病変。第 150 回に本獣医学会学術集会、2010 年 9 月 16 日、帯広畜産大学 (北海道)
- (3) Mkaouar, L., et al. Effects of

- curucumin on growth and metastasis of canine MGT in a nude mice xenograft model. 第 150 回日本獣医学会学術集会、2010 年 9 月 16 日、帯広畜産大学（北海道）
- (4) 李秀貞、他、犬の乳腺腫瘍における VEGF-A と VEGF-C の発現。第 150 回日本獣医学会学術集会、2010 年 9 月 16 日、帯広畜産大学（北海道）
- (5) 芳我彩佳、他、犬乳腺腫瘍と周囲間質細胞に発現するテネインの発現に関する研究。第 150 回日本獣医学会学術集会、2010 年 9 月 16 日、帯広畜産大学（北海道）
- (6) Lee, SJ, et al. Angiogenesis and lymphangiogenesis in tissues developed in nude mice xenografted with two canine mammary gland tumor cell lines. 29th Annual Conference of the Veterinary Cancer Society, Oct 19, 2009, Austin, USA
- (7) Mkaouar, L., et al. Relationship between NF- κ B localization and malignancy of canine mammary tumors on surgically removed tissues and those developed in a mice xenograft model. 29th Annual Conference of the Veterinary Cancer Society, Oct 19, 2009, Austin, USA
- (8) Jaroensong, T., et al. Effect of transplantation sites on the pulmonary metastasis of canine osteosarcoma cell lines in nude mice. 第 148 回日本獣医学会学術集会、2009 年 9 月 26 日、わらべ館イベントホール（鳥取県）
- (9) Nakagawa, T., et al. cDNA microarray analysis for canine osteosarcoma cells transplanted into the orthotopic and ectopic site in a nude mice model. 28th Annual Conference of the Veterinary Cancer Society, Oct 19, 2008, Seattle, USA

[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◇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

佐々木 伸雄 (SASAKI NOBUO)
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・
 教授
 研究者番号：60107414

(2)研究分担者

辻本 元 (TSUJIMOTO HAJIME)
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・
 教授
 研究者番号：60163804

西村 亮平 (NISHIMURA RYOHEI)
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・
 教授
 研究者番号：80172708

望月 学 (MOCHIZUKI MANABU)
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・
 准教授
 研究者番号：90261958

中川 貴之 (NAKAGAWA TAKAYUKI)
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・
 助教
 研究者番号：40447363

(3)連携研究者

中山 裕之 (NAKAYAMA HIROYUKI)
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・
 教授
 研究者番号：40155891

