

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592961

研究課題名(和文) Angiogeninを標的とした新規癌治療薬 neamine の口腔癌治療への応用

研究課題名(英文) Application of neamine as a new anticancer drug targeted angiogenin for oral cancer

研究代表者

岸本 晃治 (Kishimoto, Koji)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：40243480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：血管新生蛋白angiogeninは、血管内皮細胞と癌細胞内で核に移行し、リボソームRNAの転写を促進する。その結果、angiogeninは腫瘍血管新生作用と同時に癌細胞自身への直接的な増殖作用を誘導することによって癌進展に影響を及ぼす。本研究により、angiogeninの核移行阻害剤であるneamineが腫瘍血管新生を抑制することによって口腔癌の進展を抑制することが示唆された。また、neamineはあるタイプの口腔癌細胞の増殖を直接的に抑制することが考えられた。したがって、neamineは口腔癌に対する治療薬の候補と考えられる。

研究成果の概要(英文)：An angiogenic protein, angiogenin undergoes nuclear translocation and stimulates ribosomal RNA transcription in both endothelial and cancer cells. Consequently, angiogenin has a dual effect on cancer progression by inducing both angiogenesis and cancer cell proliferation. Our results suggest that neamine, a blocker of nuclear translocation of angiogenin effectively inhibits oral cancer progression through inhibition of tumor angiogenesis. Neamine also directly inhibits proliferation of certain types of oral cancer cells. Therefore, neamine has potential as a lead compound for oral cancer therapy.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：angiogenin neamine 血管新生 細胞増殖 リボソームRNA 口腔癌

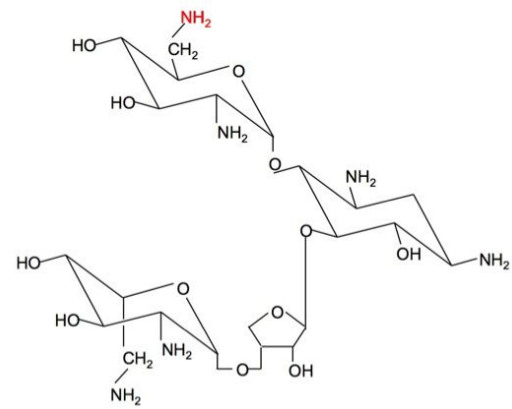
1. 研究開始当初の背景

1985年にハーバード大学医学部病理学講座 Dr. BL Valleeらにより世界で最初に分離された分子量14 kDaのリボヌクレアーゼ活性を持つ血管新生蛋白angiogeninは、大腸癌、乳癌、前立腺癌など種々の癌組織でその発現が亢進しており、近年、癌分子標的として国内外で注目されている。

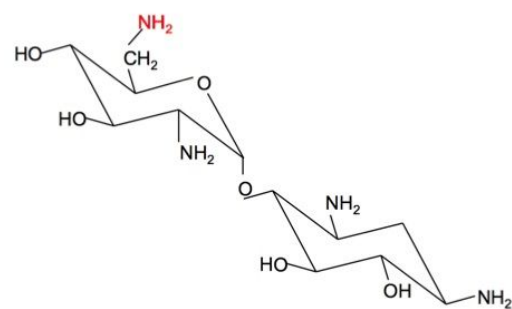
申請者らの研究成果によれば、angiogeninは血管内皮細胞のみならず癌細胞においてもエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ、核に移行する。そして、リボソームRNA遺伝子のプロモータ領域に結合しリボソームRNAの転写を促進することによって、リボソームの産生、蛋白質への翻訳、細胞増殖を誘導する。したがって、angiogeninは腫瘍血管新生作用と同時に癌細胞自身への直接的な増殖作用というdual effectを有する。Angiogeninは種々の癌組織の中でも、口腔癌で特に強発現が認められるため、口腔癌治療の分子標的として有望と考えられる。

これまでに、申請者らはアミノグリコシド系抗生物質であるneomycinが血管内皮細胞および癌細胞におけるangiogeninの核移行を阻害するために、その血管新生作用のみならず癌細胞増殖作用も抑制することを報告してきた。しかし、neomycinには強い腎毒性と耳毒性の副作用があるために、癌治療薬として臨床応用するのは難しい。申請者らはneomycinのneamine部分は毒性が低く、neomycinと同様に血管内皮細胞におけるangiogeninの核移行を阻害することを発見した(図1)。そして、neamineが、前立腺癌で強い抗腫瘍作用を示すことを明らかにしてきた。

以上から、angiogeninの核移行阻害剤であるneamineの口腔癌に対する分子標的治療薬への応用が期待される。



Neomycin



Neamine

図1 Neomycinとneamineの構造

(赤色の-NH₂の部分 angiogeninの核移行阻害作用に必須である)

2. 研究の目的

本研究では、angiogeninを標的とした口腔癌治療の有効性の検証とneamineの新規口腔癌治療薬としての評価を行う。

3. 研究の方法

(1)口腔扁平上皮癌細胞株HSC-2, HSC-3およびSASにおいて, ANGの核移行をneamineが阻害するかを検討する。次に、これらの細胞の増殖をneamineが抑制するかをin vitroで検討する。

(2)HSC-2およびSAS細胞をヌードマウスの皮下に移植し、neamine(30 mg/kg body weight、週3回)の皮下注射を行い、それぞれの腫瘍に対する抗腫瘍効果を検討する。そして、腫瘍組織を採取後、抗PCNA抗体および抗CD31抗体

で染色し、腫瘍増殖能および血管新生能を評価する。さらに、リボソームの生合成を nucleolar organizer region (NOR) の銀染色で、アポトーシスを TUNEL 染色で評価する。

4. 研究成果

(1) Neamine は、口腔扁平上皮癌細胞 HSC-2 および SAS に対する angiogenin の核移行を阻害した (図2)。また、neamine は *in vitro* で HSC-2 細胞の増殖を完全に抑制したが、SAS 細胞の増殖を完全に抑制しなかった (図3)。

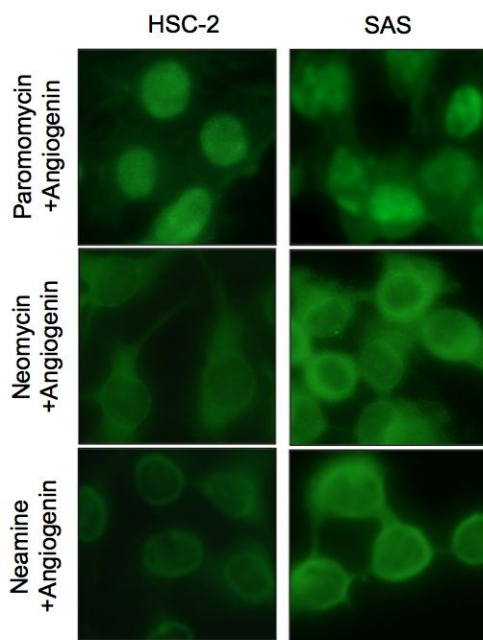


図2 Neamine による angiogenin の核移行の阻害

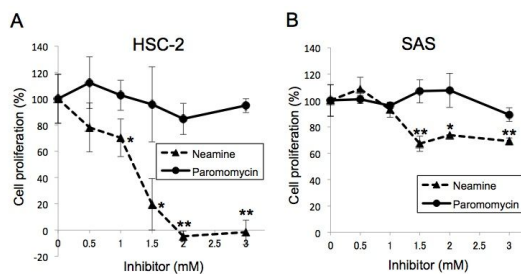


図3 HSC-2 および SAS 細胞の増殖に対する neamine の影響

(2) Neamine は、ヌードマウスに植え付けた HSC-2 および SAS 細胞の腫瘍に対して同程度に

腫瘍増殖抑制効果(約60%)を示した(図4)。そして、neamine を注射した HSC-2 腫瘍組織で、angiogenin の核内での発現の減弱、PCNA index の低下、腫瘍血管数の減少、NOR のドット数の減少、アポトーシス細胞の増加が確認できた。一方、neamine を注射した SAS 腫瘍組織では、腫瘍血管数の減少のみが確認できた (図5, 6)。したがって、HSC-2 細胞では、angiogenin の腫瘍血管新生抑制作用による抗腫瘍効果が、腫瘍細胞の増殖に対する直接的な抗腫瘍効果と重複した可能性が考えられる。

以上の結果から、今後、angiogenin を標的とした口腔癌治療の有効性が期待される。そして、neamine は口腔癌分子標的治療薬の候補と考えられるが、腫瘍血管新生抑制作用を介する腫瘍増殖抑制効果が主なメカニズムと考えられる。

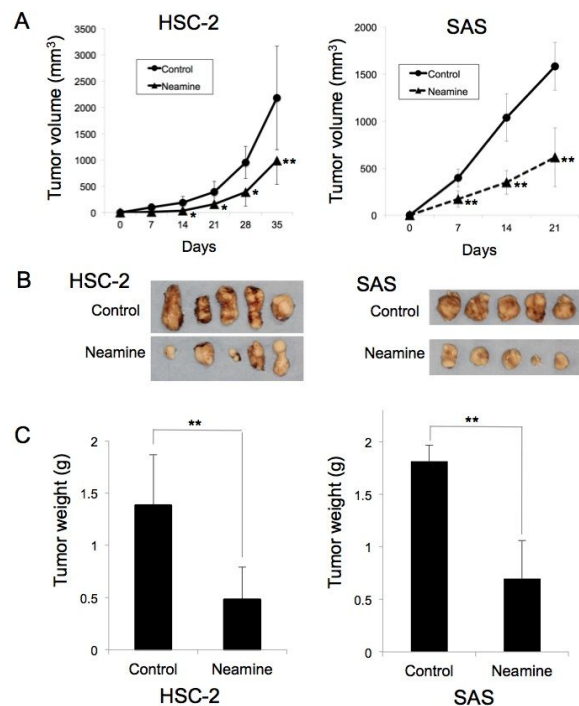


図4 ヌードマウスに植え付けた HSC-2 および SAS 細胞腫瘍の増殖に対する neamine の影響

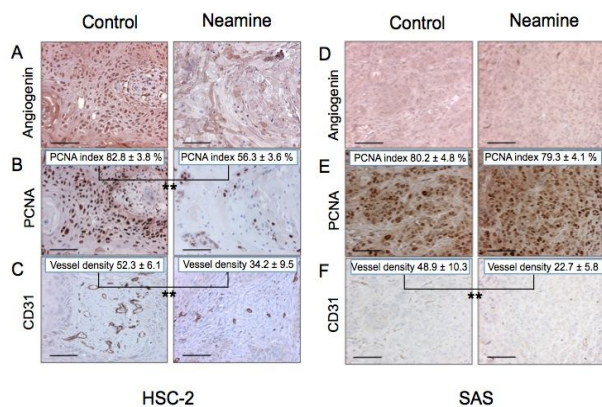


図5 HSC-2およびSAS細胞腫瘍の免疫組織化学的染色

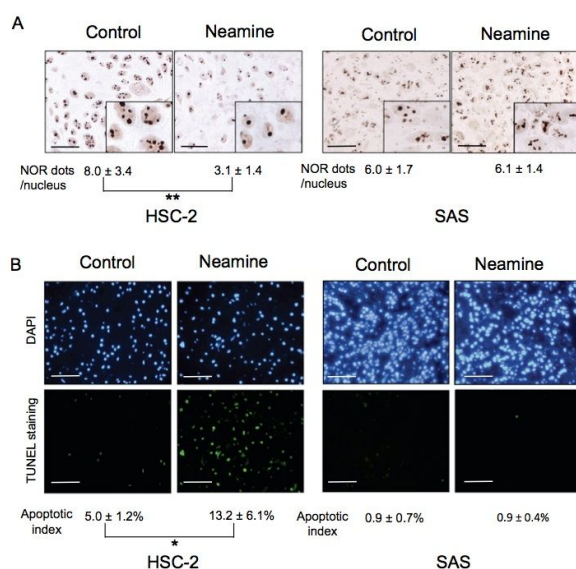


図6 リボソームの生合成およびアポトーシスするneamineの影響

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2件)

Koji Kishimoto, Shoko Yoshida, Soichiro Ibaragi, Norie Yoshioka, Guo-Fu Hu, Akira Sasaki, Neamine inhibits oral cancer progression by suppressing angiogenin-mediated angiogenesis and cancer cell proliferation, *Anticancer Research*, 34, 2113-2122, 2014. 査読有,

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24778013>

Koji Kishimoto, Shoko Yoshida, Soichiro Ibaragi, Norie Yoshioka, Tatsuo Okui, Guo-fu Hu, Akira Sasaki, Hypoxia-induced up-regulation of angiogenin, besides VEGF, is related to progression of oral cancer, *Oral Oncol*, 48, 1120-1127, 2012. 査読有, DOI10.1016〔学会発表〕(計5件)

岸本晃治 6名、Antitumor activity of neamine, an inhibitor of nuclear translocation of angiogenin, against oral cancer、21st International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery, 2013年10月21~24日、バルセロナ(スペイン)

岸本晃治 6名、Neamineの口腔癌に対する抗腫瘍効果の検討、第31回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、2013年1月24~25日、東京

岸本晃治 7名、Angiogeninの口腔癌治療に対する分子標的としての可能性、第50回日本癌治療学会学術集会、2012年10月25~27日、横浜

岸本晃治 6名、Neamine inhibits progression of oral cancer by suppressing angiogenin-stimulated angiogenesis and cancer cell proliferation、21 Congress of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery、2012年9月11~15日、Dubrovnik (Croatia)

岸本晃治 8名、Angiogeninの核移行阻害剤neamineの口腔癌に対する抗腫瘍効果の検討、第66回NPO法人日本口腔科学会学術集会、2012年05月17~18日、広島

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://okomfswweb.ccsv.okayama-u.ac.jp/index.php>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

岸本 晃治 (KISHIMOTO Koji)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：40243480

(2)研究分担者

伊原木 聡一郎 (IBARAGI Soichiro)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：805498661

(3)連携研究者

吉岡 徳枝 (YOSHIOKA Norie)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：50362984