

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 10日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23792320

研究課題名（和文）口腔癌の微小環境におけるリンパ管新生機構の解析

研究課題名（英文） Analysis of the lymphangiogenesis in the microenvironment of oral cancer

研究代表者

道 泰之 (MICHI YASUYUKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：70376755

研究成果の概要（和文）：口腔癌微小環境の再現のため、数種の培養細胞株を用い、組み合わせることにより、腫瘍増殖能とリンパ管新生能を観察し、定量化し、その変化がどの細胞の相互作用による影響が強いのか、またどのタンパクにより生じているのかを定量化し、確認し、中和抗体を用い阻害されることを確認。臨床検体を用い、免疫染色により、腫瘍浸潤尖端のリンパ管新生関連因子の発現とリンパ節転移の様相・後発転移発生の有無について関連を調べた。

研究成果の概要（英文）：

I observe tumor increase ability and lymphangiogenesis ability by putting it together with several kinds of cell line for reproduction of the oral cancer microenvironment and quantify it, and the change quantifies it whether influence by the interaction of which cell is strong which protein you produce it by again and confirms it and confirms what I use a neutralizing antibody, and is inhibited.

With a clinical specimen, I checked connection about the expression of lymphangiogenetic factor of the tumor permeation tip and presence of an aspect, the latent metastasis of lymph node by immunostaining.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：口腔外科学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：口腔癌、微小環境、リンパ管新生、VEGF-C

## 1. 研究開始当初の背景

腫瘍血管新生の可能性が示唆された1970年代初頭より現在まで拡大してきた腫瘍血管新生研究の流れの中で、個々の血管新生促進／阻害因子やその派生系としてのリンパ管新生促進因子が同定され、その結果、現在においては腫瘍血管新生を中心的に制御するVEGFに対する中和抗体やVEGF受容体などを標的にするキナーゼ阻害薬が開発され、

大腸癌などの主要な固形癌に対する治療薬として認可されている。わたくしは腫瘍血管新生因子VEGFとKDR/VEGFR-2が口腔癌細胞においていかに作用し、その役割を果たしているかを学位論文における研究で解明してきた(Michi Y, et al. Oral Oncology 36(1), 81-88, 2000.)。しかしながら、分子標的療法単独での効果は限定的で、他の化学療法薬との併用が行われている。その理由とし

て、生体内における血管新生機構の解明自体がまだまだ不十分であること、さらに癌細胞増殖機構の多様性などがあげられる。

## 2. 研究の目的

研究の目的は、口腔癌における重要な予後決定因子である「リンパ行性転移」のメカニズムを明らかにするため、口腔癌の微小環境を口腔癌培養細胞株・リンパ管内皮細胞培養細胞株・ならびにマクロファージ培養細胞株・線維芽細胞株を用いた、共培養細胞システムを構築し、より実臨床に近い培養細胞実験系を確立し、中和抗体や si-RNA などを用いそのシステムを抑制することで、中心的に作用するタンパクを同定することにある。発展的目的としてそのシステムを応用することで、オーダーメイド医療に資する、リンパ行性転移抑制系構築の基礎を築くことにある。

## 3. 研究の方法

1) 種々の割合に変化させた、癌細胞・マクロファージ・線維芽細胞の共培養によって生じる、培養上清を用い、リンパ管内皮細胞増殖能・3次元培養実験系にてリンパ管腔形成能の定量的評価を行う。

2) リアルタイム PCR を用い、上述の共培養系にて得られた情報に基づき、各種リンパ管新生因子の網羅的定量をおこなう。一部重要な因子については、ELISA 法もしくは Western blot 法にてタンパク発現量の定量評価を行う。

3) 発現量と想定される影響の強い因子から順に、中和抗体・si-RNA を用い、その発現を抑制し、リンパ管新生能に与える影響を定量評価する。

4) 患者検体より得られた標本を用いて、免疫染色を行い、確認したタンパクの組織での発現様相を確認し、臨床データ・予後との相関を検索する。

## 4. 研究成果

1) 癌細胞・マクロファージ・線維芽細胞の共培養によって生じる、培養上清を用い、リンパ管内皮細胞増殖能・3次元培養実験系にてリンパ管腔形成能の定量的評価を行った。

2) リアルタイム PCR を用い、上述の共培養系にて得られた情報に基づき、各種リンパ管新生因子の網羅的定量をおこなった。

3) 発現量と想定される影響の強い因子から順に、中和抗体を用い、その発現を抑制し、リンパ管新生能に与える影響を定量評価した。

4) 患者検体より得られた標本を用いて、免疫染色を行い、臨床データ・予後との相関を検索する

## 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 8 件)

1. 村嶋真由子、道泰之、黒原一人、飯島伸、鈴木美保、川俣綾、岡田憲彦、山城正司、石灰化嚢胞性歯原性腫瘍の臨床病理学的検討、口腔病学会雑誌、79 巻、(26~33 ページ)、2012

2. 道泰之、村嶋真由子、鈴木美保、川俣綾、黒原一人、鶴澤成一、山城正司、天笠光雄、口腔扁平上皮癌患者における重複癌の臨床的検討、日本口腔腫瘍学会誌、24 巻、(1~7 ページ)、2012

3. 山城正司、大山巖雄、道泰之、鈴木美保、鶴澤成一、川俣綾、天笠光雄、上顎歯肉扁平上皮癌の臨床病理組織学的検討、頭頸部癌、37 巻、(12~17 ページ)、2011.

4. Oue E, Lee JW, Sakamoto K, Iimura T, Aoki K, Kayamori K, Michi Y, Yamashiro M, Harada K, Amagasa T, \*Yamaguchi A. CXCL2 synthesized by oral squamous cell carcinoma is involved in cancer-associated bone destruction. Biochem Biophys Res Commun. 424(3):456-61. 2012.

5. Kurohara K, Uzawa N, Michi Y, Harada K. A Neuroendocrine Tumor in the Maxilla. J Oral Maxillofac Surg. 2012 Aug 9.

6. Honda-Uezono A, Kaida A, Michi Y, Harada K, Hayashi Y, Hayashi Y, Miura M.

Unusual expression of red fluorescence at M phase induced by anti-microtubule agents in HeLa cells expressing the fluorescent ubiquitination-based cell cycle

indicator (Fucci). Biochem Biophys Res Commun. 2012 Oct 9.

7. 八木原一博、出雲俊之、石井純一、柳下寿郎、和田森匡、渡部隆夫、山根正之、道泰之、中山竜司、岡部貞夫. 顎口腔領域腺様嚢胞癌における剖検症例の検討頭頸部癌 (1349-5747)38 巻3号 Page304-310(2012. 10)

8. 川俣綾、山田峻之、鈴木美保、道泰之、鶴澤成一、山城正司. 舌下腺に発生した限局性アミロイドーシスの 1 例。日本口腔外科学会誌 59 巻1号、38-42, 2013.

[学会発表] (計 24 件)

1. 道泰之、顎骨骨髄炎の治療法、第 65 回日本口腔科学会学術集会、東京(2011 年 4 月)

2. 木原翼、道泰之、天笠光雄、山田峻之、骨芽細胞分化に及ぼすアセロゲニンの作用。第 65 回日本口腔科学会学術集会、東京(2011 年 4 月)

3. 道川千絵子、中田好美、炭野淳、鶴澤成一、栢森高、岡田憲彦、道泰之、山城正司、山田峻之、天笠光雄、口腔舌扁平上皮癌におけるリンパ管侵襲とリンパ管密度の検索。第 35 回日本頭頸部癌学会学術集会、名古屋、(2011 年 6 月)

4. 園田格、鶴澤成一、柏森高、岡田憲彦、道泰之、山城正司、天笠光雄、口腔領域に多発した乳頭状扁平上皮癌・他臓器重複癌の症例 第 35 回日本頭頸部癌学会学術集会、名古屋、(2011 年 6 月)
5. 赤津千絵、鶴澤成一、山根正之、鈴木美保、道泰之、山城正司、岩城博、岡田憲彦、天笠光雄、舌癌後発頸部転移に関する検討 第 35 回日本頭頸部癌学会学術集会、名古屋(2011 年 6 月)
6. 新垣理宣、道泰之、山城正司、山口朗、倉林亨、顎骨内嚢胞および嚢胞性病変のケラチン発現に関する研究. 第 56 回日本口腔外科学会総会・学術大会、大阪、(2011 年 10 月)
7. 小川奈美、中久木康一、中根綾子、横溝一郎、村田志乃、光永幸代、道泰之、山根正之、山城正司、術前の状態が術後の摂食・嚥下障害に影響したと考えられた口腔癌の 3 症例. 第 56 回日本口腔外科学会総会・学術大会、大阪(2011 年 10 月)
8. 三浦千佳、道泰之、鈴木美保、川俣綾、鶴澤成一、山城正司：口腔腫瘍切除後の創面に対する PGA シートとフィブリン糊による被覆法の検討. 第 56 回日本口腔外科学会総会・学術大会、大阪、(2011 年 10 月)
9. 園田格、山城正司、鶴澤成一、道泰之、鈴木美保、川俣綾、天笠光雄：口腔粘膜早期浸潤癌の治療成績. 第 49 回日本癌治療学会学術大会(2011 年 10 月)
10. 川俣綾、山田峻之、鈴木美保、道泰之、鶴澤成一、岡田憲彦、天笠光雄、山城正司、舌下腺に発生した限局性結節性アミロイドーシスの 1 例. 第 45 回日本口腔科学会関東地方部会、東京、(2011 年 11 月)
11. 道泰之、村嶋真由子、鈴木美保、黒原一人、鶴澤成一、山城正司、下顎骨骨髓炎の臨床的検討. 第 76 回口腔病学会学術大会、東京(2011 年 12 月)
12. 稲葉好則、道泰之、鈴木美保、林央子、川俣綾、本田明日見、三浦千佳、山城正司：妊娠中に全身麻酔下での治療を行った舌癌の 2 症例. 第 192 回日本口腔外科学会関東地方会、東京(2011 年 12 月)
13. 道泰之、村嶋真由子、鈴木美保、黒原一人、鶴澤成一、山城正司、若年者口腔癌の臨床的検討. 第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、東京(2012 年 1 月)
14. 鈴木美保、道泰之、川俣綾、炭野淳、鶴澤成一、山城正司、当科における頸部郭清術後療法に関する検討. 第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、東京(2012 年 1 月)
15. 新垣理宣、坂本啓、道泰之、鈴木まどか、山城正司、倉林亨、山口朗、顎骨内の嚢胞及び嚢胞性病変のケラチン発現に関する検討. 第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、東京(2012 年 1 月)
16. 中田好美、鶴澤成一、守谷友二郎、炭野

淳、鈴木美保、道泰之、岡田憲彦、山城正司、舌癌偽陰性リンパ節転移症例に関する検討. 第 30 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会、東京(2012 年 1 月)

17. 上園明日見、于冬、戒田篤志、道泰之、山城正司、林良雄、三浦雅彦、新規微小管重合阻害剤が HeLa 細胞の細胞周期に与える影響の解析. 第 14 回癌治療増感研究シンポジウム、奈良(2012 年 2 月).

18. K. KUROHARA, N. ARAI, K. NAKAKUKI, Y. NINAKA, M. HOSOKI, N. TOMOMATSU, Y. MICHİ, M. SUZUKI, H. YOSHIMASU, T. AMAGASA and M. YAMASHIRO: A survey of Surgical-Orthodontic Cases Past a Decade in the Department of Maxillofacial surgery of Tokyo Medical and Dental University, 2012 Annual Congress of ROC Association of Oral and Maxillofacial Surgions, Taichung (Taiwan), 10th-11th March 2012.

19. 新垣理宣、道泰之、中村伸、倉林亨、播種性の遠隔転移を示した下顎扁平上皮癌の FDG-PET/CT 所見と剖検結果の比較検討. 第 53 回日本歯科放射線学会学術大会、盛岡市、2012 年 6 月

20. 小川奈美、中久木康一、村田志乃、中根綾子、道泰之、光永幸代、横溝一郎、山城正司、戸原玄、関田俊明、大渡凡人、原田清、口腔腫瘍切除再建後の嚥下機能訓練パス導入による効果と継続性. 第 17 回第 18 回共催日本摂食・嚥下リハビリテーション学会学術大会、札幌市、2012 年 8 月

21. 鈴木美保、道泰之、川俣綾、炭野淳、鶴澤成一、山城正司、当科における下顎骨区域欠損症例に関する検討. 第 66 回日本口腔科学会学術集会、広島市、2012 年 5 月

22. 奥山紘平、道泰之、鈴木美保、名生邦彦、三浦千佳、加地博一、山城正司、原田清. 下顎歯肉癌に対して当科で施行した下顎辺縁切除に関する臨床的検討. 第 57 回日本口腔外科学会総会、横浜、2012 年 10 月.

23. 道泰之、山城正司、原田清. ビスフォスフォネート製剤関連顎骨壊死症例の臨床的検討. 第 57 回日本口腔外科学会総会、横浜、2012 年 10 月.

24. 三浦千佳、道泰之、鈴木美保、山城正司、名生邦彦、加地博一、奥山紘平、原田清. Excisional biopsy を行った舌癌 Stage I 症例の臨床的検討. 第 57 回日本口腔外科学会総会、横浜、2012 年 10 月.

〔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

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

道 泰之 (MICHI YASUYUKI)  
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究  
科・助教

研究者番号：70376755

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：