
上村修三郎「がん研究」奨励賞受賞講演

ケモカインシステムによる口腔癌のリンパ節転移機構

内田 大亮

キーワード：口腔癌, CXCR4, SDF-1, リンパ節転移

Mechanism of the Lymph Node Metastasis by the Chemokine System in Oral Cancer

Daisuke UCHIDA

Abstract : Recently, it has been suggested that chemokine and its receptor interactions determine the destination of the penetrating tumor cells in several types of cancer. However, little information is available on the lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma (SCC). In this review, I would like to summarize the regulation of lymph node metastasis by the chemokine system in oral SCC using lymph node metastatic (HNt and B88) and non-metastatic (IH and BHY) oral SCC cells. Of 13 kinds of chemokine receptors examined by multiplex reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), only CXCR4 expression was up-regulated in HNt and B88 cells. CXCR4 ligand, stromal cell-derived factor-1 (SDF-1; also called CXCL12), induced characteristic calcium fluxes and cell migration only in the CXCR4-expressing cells. Stable transfectant of CXCR4, IH-CXCR4, acquired the lymph node metastatic potentials in the orthotopic inoculation of nude mice. SDF-1 rapidly activated extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2 and Akt/protein kinase B (PKB) in B88 and IH-CXCR4 cells, and their synthetic inhibitors attenuated the migration by SDF-1. SDF-1 was detected in all the lymph node extracts and conditioned media from lymphatic fibroblast by the enzyme-linked immunosorbent assay. Moreover, the localization of SDF-1 in the submandibular lymph nodes was mainly in the stromal cells. The conditioned media from lymphatic fibroblasts promoted the migration of B88 cells, which was blocked by the CXCR4 neutralization. By using immunohistochemistry, the expression of CXCR4 was observed in 57.3% of the subjects and was significantly associated with lymph node metastasis ($P=0.0417$), the mode of invasion ($P=0.0002$) and recurrence of the tumors ($P=0.0185$). Moreover, the CXCR4-positive group showed a significantly poorer survival than the CXCR4-negative group ($P=0.0401$). Next, experimental chemotherapy was performed in the IH-CXCR4 tumor by the treatment of a mitogen-activated protein kinase/ERK kinase inhibitor, U0126, or a phosphatidylinositol 3 kinase inhibitor, Wortmannin. These kinase inhibitors markedly inhibited the lymph node metastasis of IH-CXCR4 cells. Moreover, vesnarinone, a novel anti-cancer drug, significantly down-regulated CXCR4 protein and mRNA. These results suggested that SDF-1/CXCR4 system regulates the establishment of lymph node metastasis in patients with oral SCC. It can be considered that blocking of SDF-1/CXCR4 system by the kinase inhibitors or vesnarinone might be a way to protect the patients with oral SCC from lymph node metastasis.

緒 言

口腔癌の発症率は、全世界のヒト悪性新生物の中で、2.65%であると累計されるが¹⁾、口腔癌のほとんどは病理組織学的に扁平上皮癌である。現在のところ、口腔扁平上皮癌の主な治療法は放射線治療、手術療法、化学療法に大別されるが、これらの治療法はこの10年間で目覚ましい進歩をとげた。すなわち、放射線治療においては従来のガンマ線からX線・電子線へ発達し、ピンポイントで高エネルギー量の照射が可能になった。また、手術療法においても顎口腔再建手術の進歩により、術後の機能障害を回避しつつ、手術の安全域を拡大できるようになった。また化学療法においても、副作用の少ない優れた抗癌剤が開発された。しかしながら、1990年と2000年における口腔癌の治療成績（致死率/発生率×100）を算出すると、1990年で45.6%、2000年で47.9%と、治療法の進歩にも関わらず治療成績はこの10年間でほとんど向上していない^{2,3)}。この結果の一因として、口腔癌の特色である高頻度な所属リンパ節転移が考えられる。我々は、口腔癌の予後向上には培養細胞・動物モデルを用いた、リンパ節転移機構の解明が重要であると考へ、癌細胞をヌードマウス咬筋内に移植する同所性移植モデルシステムを構築した。その結果、従来の背部皮下移植系ではリンパ節転移能を有しないが、同所性移植にてリンパ節転移能を獲得するHNtおよびB88細胞を分離・樹立した^{4,5)}。HNt細胞は、リンパ節転移能を有しない口腔扁平上皮癌細胞株(BHY, IH)と比較して、細胞外基質蛋白分解酵素である活性型Matrix Metalloprotease (MMP) 2を大量に分泌しており、その阻害蛋白であるtissue inhibitor of MMP (TIMP) 2の分泌が低いことを報告した⁴⁾。また、我々はリンパ節転移を認めた口腔扁平上皮癌原発巣において、MMP2活性が高いこと⁶⁾、hepatocyte growth factor (HGF)の分泌が亢進していること⁷⁾も報告している。しかしながら、血中に存在する口腔癌細胞をcytokeratin (CK) 20 mRNAを指標に検出したところ、リンパ節転移の有無に関わらず、ほとんどの担癌患者において検出されたことから⁸⁾、口腔癌におけるリンパ節転移の成立には、癌細胞自身の血中あるいはリンパ流路に入る能力よりも、流入後に生じる癌細胞と転移臓器側との親和性が重要であると考えられた。以上のデータに基づき、本総説では、癌細胞自身の表現形質と転移臓器側との親和性を決定するシステムとしてケモカインシステムに着目し、リンパ節自身が産生するケモカインと癌細胞自身の発現するケモカインレセプターの結合が癌細胞をリンパ節へ誘導する要因になりうるか、我々のデータ^{5,9,10)}に基づき論じてみたい。

生体におけるケモカインシステムの役割

ケモカインレセプターは、7回膜貫通構造をもつG蛋白結合型受容体の1種であるが、その構造により、現在4つのファミリー(CC, CXC, CX3C, XC)に分類

されている^{11,12)}。これらファミリーに属するケモカインレセプターは、現在18種類がクローニングされているが、その発現は血球系細胞のみならず、上皮系・間葉系の細胞にも認められる。ケモカインレセプターはそれぞれのレセプターに特異的なリガンド(ケモカイン)と結合し、白血球遊走、リンパ球ホーミング、炎症、造血、胎児形成、血管新生など様々な機能を発揮することが明らかにされている^{11,12)}。このように、ケモカインシステムは生体防御や生体形成など、生体にとって有益なシステムと考えられてきた。しかしながら、1996年ケモカインレセプターの1種であるCXCR4がhuman immunodeficiency virus-type 1 (HIV)の細胞内エントリーの際にCD4の共役レセプターになることが判明し¹³⁾、この発見は1996年度におけるScience誌のBreakthrough of The Yearに選ばれた。さらに、2001年、Mullerらは乳癌の臓器特異的な転移がケモカインシステムを利用しているという驚くべき報告をした¹⁴⁾。こうしてケモカインシステムが生体に利害性を有する諸刃の剣であることが明らかにされ、その後も我々のグループを含め、多種多様な癌において癌細胞自身が発現するケモカインレセプターと転移の関連性が報告された^{14,20)}。

ケモカインレセプター CXCR4とリンパ節転移

リンパ球ホーミングとは骨髄にて産生された幼弱リンパ球が、やがて発現するケモカインレセプターを利用しつつ、リンパ節・脾臓などの二次リンパ組織の分泌するケモカインに引き寄せられながら、血流あるいはリンパ流路にのり、二次リンパ組織に着床・教育・成熟化される生体システムである。我々の領域で頻発するリンパ節転移は、ケモカインシステムの中でもリンパ球ホーミングに近いと考えられたため、口腔扁平上皮癌細胞がこのようなシステムでリンパ節転移を行う可能性を考えた。まず我々は、ヌードマウス同所性移植にてリンパ節転移能を有する口腔扁平上皮癌細胞(B88, HNt細胞)、有しない細胞(BHY, IH細胞)、および正常歯肉上皮細胞(GE1-3)におけるケモカインレセプターの発現をマルチプレックス reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)法にて検索した。その結果、13種類のケモカインレセプターの中で、CXCR4 mRNAのみがリンパ節転移能を有するHNt, B88細胞において発現しており(図1a)、この結果は蛋白レベルでも同様に再現していた(図1b)。また、CXCR4発現細胞であるB88, HNt細胞ではリガンドSDF-1に反応して、カルシウムフラックス(図2a)、細胞遊走の亢進(図2b)が認められたことから、B88, HNt細胞において発現しているCXCR4が機能的であることが明らかとなった。これらの現象はCXCR4を発現している口腔癌細胞がリンパ節転移過程において、SDF-1/CXCR4システムを利用している可能性を示唆するものである。しかしながら、その直接的証拠にはならないため、CXCR4低発現株であり、

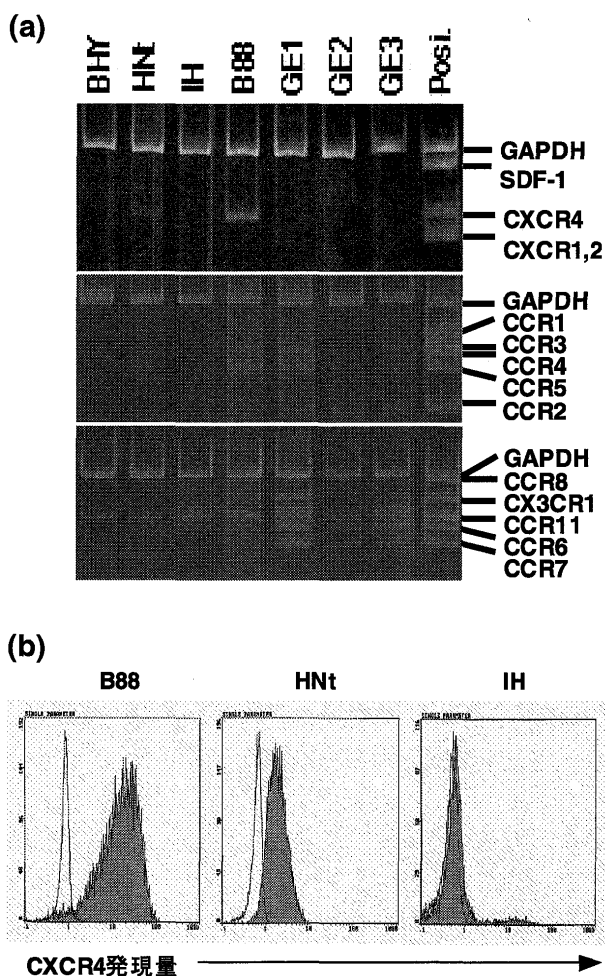


図1 口腔扁平上皮癌細胞における CXCR4 の発現
 (a) 各細胞より全 RNA を抽出し、逆転写後、各種ケモカインレセプターの発現をマルチプレックス RT-PCR 法にて検索した。その結果、13種類のケモカインレセプターの中で、CXCR4 mRNA のみがリンパ節転移能を有する HNT, B88細胞において発現していた。右側に検索した遺伝子名を記載している。Posi はキット付属の陽性対象を示している。(b) 口腔扁平上皮癌細胞 (B88, HNT, IH) における CXCR4 蛋白の発現をフローサイトメトリーにて検索した。B88, HNT細胞において CXCR4 の発現が認められたが、IH細胞においては低レベルであった。

リンパ節転移能を有しない IH 細胞に CXCR4 を強制発現させた細胞 (IH-CXCR4) を作製し、リンパ節転移能の検索を行った。IH-CXCR4 細胞、あるいは親株 IH 細胞をヌードマウスに同所性移植したところ、IH-CXCR4 細胞は高頻度に所属リンパ節転移を生じたが (4/5)、親株 IH 細胞ではリンパ節転移を認めなかった (0/5)。以上より口腔扁平上皮癌細胞における CXCR4 の発現はリンパ節転移の誘因になることが明らかになった。

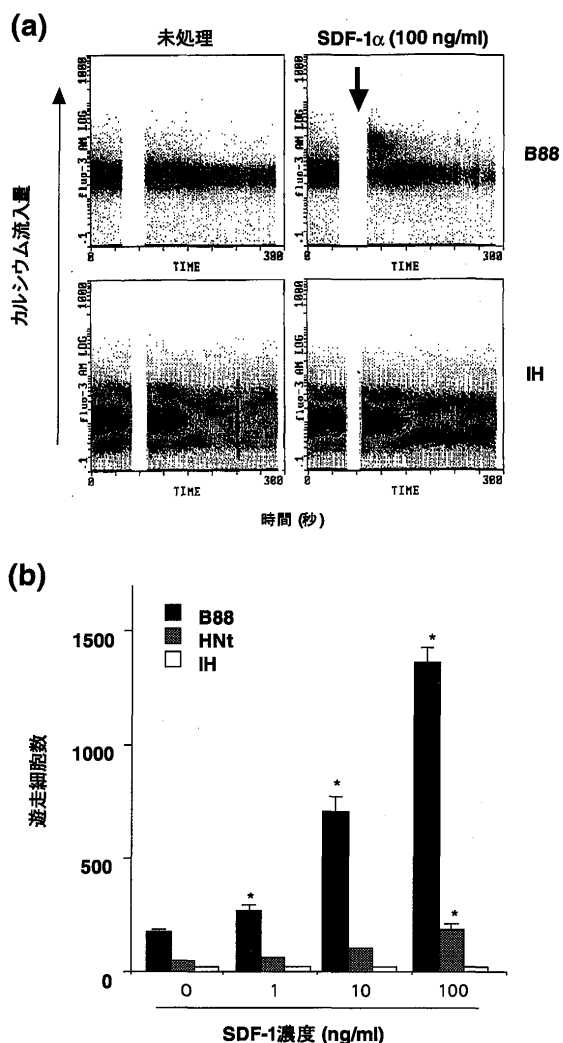


図2 口腔扁平上皮癌細胞における CXCR4 の機能的発現
 (a) SDF-1 刺激後の B88, IH 細胞におけるカルシウム流入量をフローサイトメトリーにて検索した。B88細胞では SDF-1 刺激後短時間で細胞内カルシウムの上昇が認められたが、CXCR4 を発現していない IH 細胞では認められなかった。(b) SDF-1 に対する細胞遊走能を migration assay にて検索した。B88, HNT細胞では SDF-1 濃度依存的に細胞遊走が促進されたが、IH細胞では最高濃度の SDF-1 においても細胞遊走は認められなかった。

SDF-1/CXCR4システムによる細胞内シグナリング

次に SDF-1/CXCR4 システムによる細胞内シグナルを検索したところ、SDF-1 による刺激は短時間で細胞内 extracellular-regulated kinase (ERK) 1/2, Akt/protein kinase B (PKB) のリン酸化を起し、おのおの活性化は、mitogen-activated protein kinase/ERK kinase (MEK) 阻害剤と phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K) 阻害剤にて抑

制された (図 3 a-c)。これらの阻害剤は、それぞれ単独で SDF-1 による細胞遊走を阻害したが、併用した場合、SDF-1 による細胞遊走はほぼ完全に抑制された (図 3 d)。さらに IH-CXCR4 細胞においても ERK1/2, Akt/PKB の活性化が認められ (図 3 a, b), B88細胞と同様に SDF-1 による細胞遊走は MEK 阻害剤と PI3K 阻害剤によりブロックされた (図 3 e)。以上より口腔扁平上皮癌の SDF-1/CXCR4 シグナルによる細胞遊走には ERK, Akt/PKB の活性化が重要な役割を担っていることが示唆された。

臨床材料における SDF-1 と CXCR4 の発現

口腔癌の主な転移臓器である顎下リンパ節における SDF-1 の発現を検索したところ、非転移リンパ節における SDF-1 の発現は、検索した 5 例全てにおいて認められ、その平均値はおよそ 1 ng/mg protein であり (図 4 a), その局在は主にリンパ間質であった (データは

示していない)。さらに、顎下リンパ節由来線維芽細胞は多量の SDF-1 を産生しており (図 4 a), 同細胞由来の培養上清は、B88細胞の遊走を促進し、その効果は抗 CXCR4 中和抗体にて抑制された (図 4 b)。以上の結果より、リンパ節に発現している SDF-1 が CXCR4 発現癌細胞に対するアトラクタント (引力) として作用している可能性が示唆された。そこで、口腔扁平上皮癌患者における初診時の生検組織を用い、臨床的にリンパ節転移が認められた腫瘍、認められない腫瘍を用い、免疫組織化学染色にて CXCR4 と SDF-1 の染色性を検索したところ、61 例中 35 例の症例で CXCR4 の染色を認めた。さらに CXCR4 の発現と種々の臨床病理学的因子との関連を検索したところ、CXCR4 陽性症例は、有意にリンパ節転移 ($P=0.0417$), 高浸潤度 ($P=0.0002$), 局所再発 ($P=0.0185$) と関連していた (Fisher's exact test)。また、CXCR4 陽性症例では、CXCR4 陰性症例と比較して 5 年生存率が有意に低下していた ($P=0.0401$; 図 4 c)。

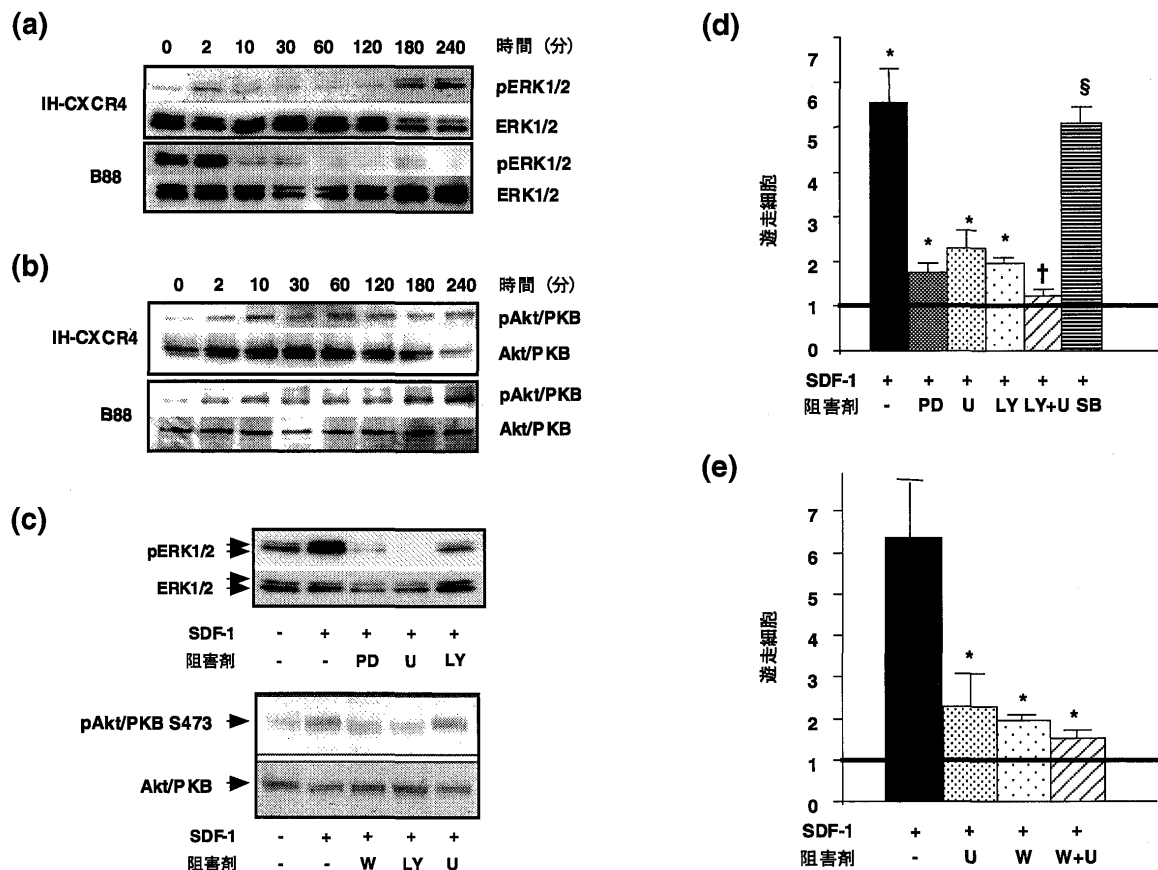


図 3 口腔扁平上皮癌細胞における SDF-1/CXCR4 による細胞内シグナル

(a) IH-CXCR4, B88細胞では、SDF-1 により短時間で 2 相性の ERK1/2 の活性化が認められた。(b) IH-CXCR4, B88細胞では、SDF-1 により短時間で持続的な Akt/PKB の活性化が認められた。(c) SDF-1 による ERK1/2 のリン酸化は MEK 阻害剤 (PD098059, U0126) にて阻害された。SDF-1 による Akt/PKB のリン酸化は PI3K 阻害剤 (Wortmannin, LY294002) にて阻害された。(d) B88細胞, (e) IH-CXCR4 細胞の SDF-1 による細胞遊走は MEK 阻害剤, PI3K 阻害剤にて抑制された。*SDF-1 非添加細胞と比較して有意差あり, †SDF-1 非添加細胞と比較して有意差なし。§ SDF-1 単独添加細胞と比較して有意差なし。PD; PD098059, U; U0126, LY; LY294002, W; Wortmannin, SB; SB203580 (p38MAPK 阻害剤)。

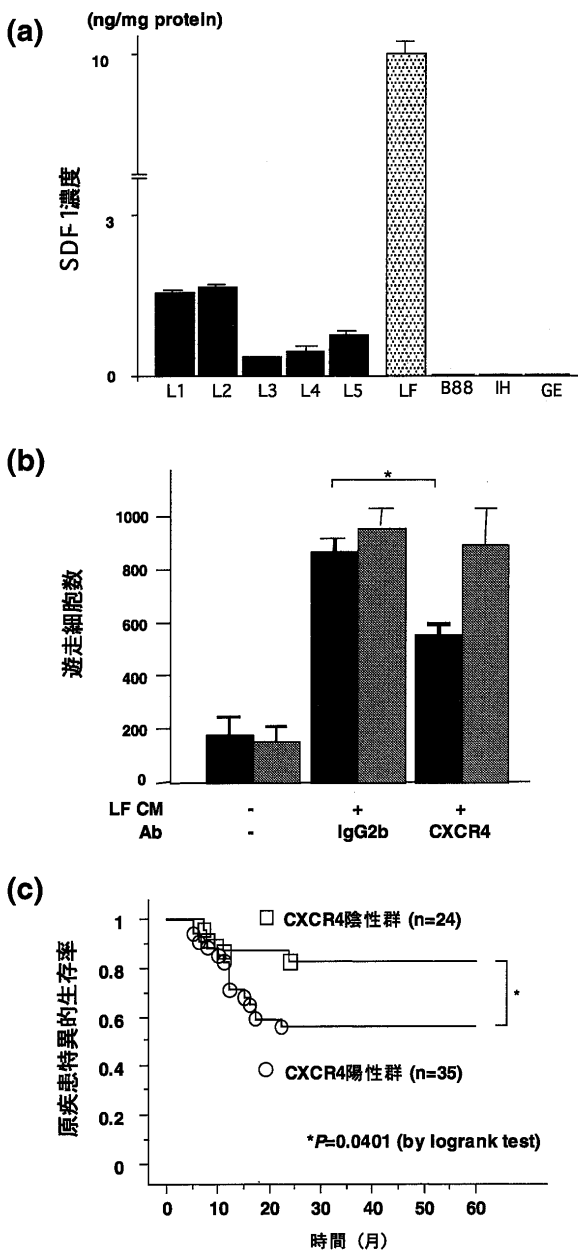


図4 健常リンパ節、癌組織における SDF-1/CXCR4 の発現と予後
 (a) 5 患者の非転移顎下リンパ節より抽出した蛋白とリンパ節由来線維芽細胞 (LF), 口腔扁平上皮癌細胞由来の培養上清より ELISA 法にて SDF-1 レベルを検索した。リンパ節組織と LF において SDF-1 の産生が認められたが, 癌細胞には認められなかった。(b) LF 由来培養上清を migration chamber の上方 (灰色) あるいは下方 (黒色) に添加し, CXCR4 中和抗体添加, 非添加群にて細胞遊走の変化を検索した。LF 培養上清添加群 (下方) にて細胞遊走の充進が認められるが, その効果は CXCR4 中和抗体にて有意に抑制された (*P<0.001)。(c) 原発巣における CXCR4 の発現と 5 年生存率の関係を Kaplan-Meier 法にて検索した。CXCR4 陽性群では 5 年生存率の有意な減少が認められた (*P=0.0401)。

CXCR4を標的にした転移抑制療法の可能性

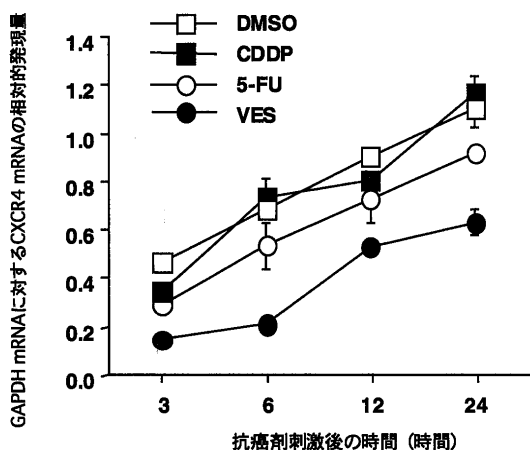
ここまでの結果は SDF-1/CXCR4 システムが口腔扁平上皮癌のリンパ節転移に関連していることを強く示唆するものであり, SDF-1/CXCR4 システムを標的にした転移抑制療法の可能性が示唆される。そのため, まず IH-CXCR4 細胞のリンパ節転移に関して *in vitro* で顕著な SDF-1 誘導性の細胞遊走抑制を認めた kinase 阻害剤である U0126 あるいは Wortmannin の腹腔内投与を行った。その結果, IH-CXCR4 のリンパ節転移は有意に抑制された (表 1)。しかしながら, この実験的治療においては, マウスに grade II 以上の重度の体重減少を認めたことから, 至適投与量の調整が必要かもしれないが, これら kinase 阻害剤の臨床投与は困難であると考えられた。現在, 多くのグループから CXCR4 中和抗体や合成阻害剤, siRNA を用いたマウスにおける実験的治療が行われている^{14, 21, 22)}。しかしながら, それらの実験結果を見ると, 転移抑制効果は認めるものの, 原発腫瘍に対する増殖抑制効果が少なく, 効果的な癌治療という観点からみれば, 非現実的である。そこで, 我々は原発巣に対し増殖抑制効果を有することが明らかである既存の抗癌剤に CXCR4 の発現調節機構を有する薬剤が存在するかどうかを検索した。その結果, 用いた抗癌剤 [5-Fluorouracil (5-FU), cis-diamminedichloroplatinum (CDDP), ベスナリノン] の中で, ベスナリノンは CXCR4 の著明な発現抑制をおこした (図 5 a, b)。ベスナリノンは 2-(1H)-キノリノンを基本骨格とする誘導体であり, 当初ジギタリスにかわる慢性心不全の経口治療薬として開発されたが, その後の研究にて *in vitro* および *in vivo* において多くの腫瘍細胞に対して分化・アポトーシス誘導活性, 細胞増殖抑制活性を有することが明らかになった²³⁾。また, 我々はベスナリノンがヒト唾液腺癌細胞において TSC-22, p21^{waf1} などをはじめとした分化, 増殖調節遺伝子の発現を誘導することを見出しているが^{24, 25)}, 転移を含めた口腔癌の進展過程におけるベスナリノンの作

表 1 IH-CXCR4 担癌マウスにおけるキナーゼ阻害剤の効果

処理薬剤	腫瘍体積 (LW ² /2)	転 移	
		頸部リンパ節	肺
DMSO (2.5 ml/kg)	22.3 ± 15.3	6/8	0/8
U0126 (10 mg/kg)	19.6 ± 13.0	1/7	0/7
Wortmannin (1.5 mg/kg)	25.1 ± 12.8	2/7	0/7

キナーゼ阻害剤投与は IH-CXCR4 担癌マウスにおける頸部リンパ節転移を抑制した。L= 腫瘍長径, W= 腫瘍短径

(a)



(b)

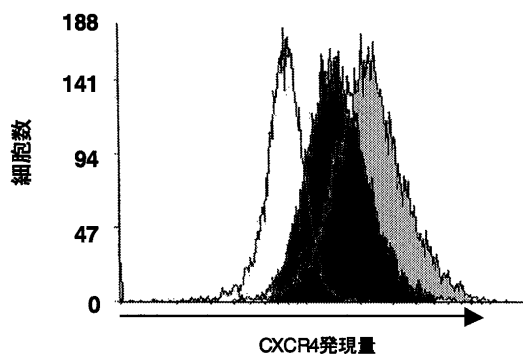


図5 ベスナリノンによる CXCR4 の発現抑制効果

(a) B88細胞を各種抗癌剤 (CDDP, 5-FU, ベスナリノン)にて処理し,経時的に全RNAを回収し,リアルタイム RT-PCRを行った。ベスナリノンによる CXCR4 mRNA の発現減少が認められた。(b) B88細胞をベスナリノン (黒色), コントロールの DMSO (灰色)にて処理後,12時間で回収し, CXCR4 蛋白の発現をフローサイトメトリーにて確認した。CXCR4 蛋白の発現はベスナリノンにて約半減した。

用機序は明らかではなかった。現在,ベスナリノンの CXCR4 の発現制御メカニズムに対し,詳細な検索を行っているが,今後ベスナリノンを含めた CXCR4 を標的とした新規転移抑制療法の開発が,口腔扁平上皮癌の治療成績向上のために重要であると思われる。

稿を終えるにあたり,本研究の実施に際し,ご助言をいただいた佐藤光信教授,遂行にご協力いただいたナシマベゴムミラ先生,富塚佳史先生,尾上富太郎先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Parkin DM, Bray F, Ferlay J and Pisani P: Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 94,153-156 (2001)
- 2) Pisani P, Parkin DM, Bray F and Ferlay J: Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int J Cancer* 83,18-29 (1999)
- 3) Parkin DM, Pisani P and Ferlay J: Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 80, 827-841(1999)
- 4) Kawamata H, Nakashiro K, Uchida D, Harada K, Yoshida H and Sato M: Possible contribution of active MMP2 to lymph-node metastasis and secreted cathepsin L to bone invasion of newly established human oral-squamous-cancer cell lines. *Int J Cancer* 70, 120-127 (1997)
- 5) Uchida D, Begum NM, Almofti A, Nakashiro K, Kawamata H, Tateishi Y, Hamakawa H, Yoshida H and Sato M: Possible role of stromal-cell-derived factor-1/CXCR4 signaling on lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. *Exp Cell Res* 290, 289-302 (2003)
- 6) Kawamata H, Uchida D, Hamano H, Kimura-Yanagawa T, Nakashiro K, Hino S, Omotehara F, Yoshida H and Sato M: Active-MMP2 in cancer cell nests of oral cancer patients: correlation with lymph node metastasis. *Int J Oncol* 13, 699-704 (1998)
- 7) Uchida D, Kawamata H, Omotehara F, Nakashiro K, Kimura-Yanagawa T, Hino S, Begum NM, Hoque MO, Yoshida H, Sato M and Fujimori T: Role of HGF/C-MET system in invasion and metastasis of oral squamous cell carcinoma cells in vitro and its clinical significance. *Int J Cancer* 93, 489-496 (2001)
- 8) Kawamata H, Uchida D, Nakashiro K, Hino S, Omotehara F, Yoshida H and Sato M: Haematogenous cytokeratin 20 mRNA as a predictive marker for recurrence in oral cancer patients. *Br J Cancer* 80, 448-452 (1999)
- 9) Uchida D, Begum NM, Tomizuka Y, Bando T, Almofti A, Yoshida H and Sato M: Acquisition of lymph node, but not distant metastatic potentials, by the over-expression of CXCR4 in human oral squamous cell carcinoma cells. *Lab Invest* 84, 1538-1546 (2004)
- 10) Ammar A, Uchida D, Begum NM, Tomizuka Y, Iga H, Yoshida H and Sato M: The clinicopathological significance of the expression of CXCR4 protein in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 25, 65-71 (2004)
- 11) Rossi D and Zlotnik A: The biology of chemokines and their receptors. *Annu Rev Immunol* 18, 217-242 (2000).
- 12) Zlotnik A and Yoshie O: Chemokine a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 12, 121-127

- (2000)
- 13) Feng Y, Broder CC, Kennedy PE and Berger EA: HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 272, 872-877 (1996)
 - 14) Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, McClanahan T, Murphy E, Yuan W, Wagner SN, Barrera JL, Mohar A, Verastegui E and Zlotnik A: Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 410, 50-56 (2001)
 - 15) Scotton CJ, Wilson JL, Milliken D, Stamp G and Balkwill FR: Epithelial cancer cell migration: a role for chemokine receptors? *Cancer Res* 61 4961-4965 (2001)
 - 16) Taichman RS, Cooper C, Keller ET, Pienta KJ, Taichman NS and McCauley LK: Use of the stromal cell-derived factor-1/CXCR4 pathway in prostate cancer metastasis to bone. *Cancer Res* 62, 1832-1837 (2002)
 - 17) Schrader AJ, Lechner O, Templin M, Dittmar KE, Machtens S, Mengel M, Probst-Kepper M, Franzke A, Wollensak T, Gatzlaff P, Atzpodien J, Buer J and Lauber J: CXCR4/CXCL12 expression and signalling in kidney cancer. *Br J Cancer* 86, 1250-1256 (2002)
 - 18) Zhou Y, Larsen PH, Hao C and Yong VW: CXCR4 is a major chemokine receptor on glioma cells and mediates their survival. *J Biol Chem* 277, 49481-49487 (2002)
 - 19) Kijima T, Maulik G, Ma PC, Tibaldi EV, Turner RE, Rollins B, Sattler M, Johnson BE and Salgia R: Regulation of cellular proliferation, cytoskeletal function, and signal transduction through CXCR4 and c-Kit in small cell lung cancer cells. *Cancer Res* 62, 6304-6311 (2002)
 - 20) Hwang JH, Hwang JH, Chung HK, Kim DW, Hwang ES, Suh JM, Kim H, You KH, Kwon OY, Ro HK, Jo DY and Shong M: CXC chemokine receptor 4 expression and function in human anaplastic thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 88, 408-416 (2003)
 - 21) Liang Z, Wu T, Lou H, Yu X, Taichman RS, Lau SK, Nie S, Umbreit J and Shim H: Inhibition of breast cancer metastasis by selective synthetic polypeptide against CXCR4. *Cancer Res* 64, 4302-4308 (2004)
 - 22) Liang Z, Yoon Y, Votaw J, Goodman MM, Williams L and Shim H: Silencing of CXCR4 blocks breast cancer metastasis. *Cancer Res* 65, 967-971 (2005)
 - 23) Kawamata H, Omotehara F, Nakashiro K, Uchida D, Hino S and Fujimori T: Vesnarinone: a differentiation-inducing anti-cancer drug. *Anticancer Drugs* 14, 391-395 (2003)
 - 24) Omotehara F, Kawamata H, Uchida D, Hino S, Nakashiro K and Fujimori T: Vesnarinone, a differentiation inducing drug, directly activates p21(waf1) gene promoter via Sp1 sites in a human salivary gland cancer cell line. *Br J Cancer* 87, 1042-1046 (2002)
 - 25) Kawamata H, Nakashiro K, Uchida D, Hino S, Omotehara F, Yoshida H and Sato M: Induction of TSC-22 by treatment with a new anti-cancer drug, vesnarinone, in a human salivary gland cancer cell. *Br J Cancer* 77, 71-78 (1998)