

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08987

研究課題名(和文) 膠芽腫の血管co-option・mimicry・低酸素領域の分子機構と標的治療

研究課題名(英文) Molecular mechanisms and target therapy of vessel co-option and mimicry for glioblastoma

研究代表者

高野 晋吾 (Takano, Shingo)

筑波大学・附属病院・病院講師

研究者番号：50292553

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：膠芽腫の血管新生抑制療法は、臨床試験で生存期間の延長がなく、抵抗性の存在が考えられ、主原因であるvasculogenic mimicry (VM)とVascular co-option (CO)の標的分子は明らかでない。本研究では、膠芽腫検体でVMとCOを定量評価し、VMとCOのin vitroモデルを開発した。モデルで抑制剤(SDF-1、connexin43、chetomin)の評価を行った。さらにchetominはマウス脳内膠芽腫モデルで増殖抑制効果を確認した。これら抑制剤はVMおよびCOを抑制した。VMおよびCOを標的とした治療は膠芽腫の血管新生抑制の抵抗性を克服する手段となりうる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管新生のvasculogenic mimicryとco-optionは膠芽腫血管新生抑制療法の抵抗性に関わる因子で、その標的分子を明らかにすることができた。標的は膠芽腫検体でも確かめられており、今後さらなる分子の開発が期待される。また、本研究で明らかにされたchetominの抵抗性の抑制作用は、HIF1抑制作用と合わせて実臨床での検討が期待れる。

研究成果の概要(英文)：Anti-angiogenic treatment for glioblastoma was not effective in clinical study, due to resistance such as vascular mimicry and vessel co-option. In this study, we developed in vitro VM and co-option model, and using this model, we found several target factors of VM and co-option. Inhibitors of SDF-1, connexin43 and chetomin inhibited GBM induced VM and co-option. Also these factors were strongly appeared in glioblastoma specimens. These inhibitors should be used for resistance case of angiogenesis of glioblastoma.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：血管新生抑制 VEGF抵抗性 血管co-option 血管mimicry chetomin

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膠芽腫の血管新生抑制療法は、臨床試験で生存期間の延長が得られず、抵抗性の存在が考えられ、抵抗性の主原因である vasculogenic mimicry (VM) と Vascular co-option (CO) の標的分子は明らかでない。この標的分子を明らかにして、標的治療を行えば、現時点での血管新生抑制療法の現局的な効果を克服するすることができると考えられていた。血管新生抑制の抵抗性の克服につながる新規の標的が求められていた。

2. 研究の目的

血管新生の vasculogenic mimicry (VM) と co-option (CO) は膠芽腫血管新生抑制療法の抵抗性に関わる因子で、その標的分子を明らかにすることができれば、血管新生抑制療法の抵抗性の克服につながる。標的を検索するために、VM と CO の *in vitro* のモデルを膠芽腫細胞と血管内皮細胞を用いて作成すること、また膠芽腫腫瘍検体組織での発現を確認することを目的とした。さらに、これらの標的分子を標的として、*in vivo* マウス脳内膠芽腫モデルでの効果を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

【*In vitro* モデルの作成】VM モデルは U87 膠芽腫細胞をマトリゲル上で培養することで形成される管腔構造の長さと同数の分岐を測定することで VM の程度を評価し、抑制剤を投与することで抑制効果を検討した。CO は血管内皮細胞と U87 膠芽腫細胞とのコラーゲンゲル上での共培養により、血管内皮細胞が形成する管腔構造に遊走する膠芽腫細胞の程度を評価し、遊走に関する抑制剤の投与による抑制効果を検討した。

【膠芽腫検体での標的分子の確認】また、*in vitro* モデルで確かめた標的分子の膠芽腫検体内での確認を免疫染色で確認した。

【マウス脳内モデルでの効果】上記で確認した *in vitro* および腫瘍検体での標的分子の抑制剤の効果を、マウス脳内膠芽腫モデルで評価した。

【Bevacizumab 不応例での評価】臨床で Bevacizumab の使用例において良好な反応例と効果の乏しい不応例が存在し、両者間での VM および CO の程度を比較した。

4. 研究成果

【膠芽腫における VM】頻度は検討した 14 症例全症例でみられ、平均 205 個の血管を観察し、VM は平均 4.2% にみられた。Chetomin は低酸素状態で U87-MG の管腔形成 (*in vitro* VM モデル) を 10nM で 70% 抑制した。脳内移植モデルでは chetomin 投与群で腫瘍サイズと血管密度は非投与群と変わりなかったが、VM 頻度は減少する傾向がみられた。Chetomin は膠芽腫の HIF-1 発抑制に加えて、VM を抑制することから、VEGF 抑制療法と合わせた治療への応用が期待される。

【膠芽腫における cooption】検討した 14 症例全例で腫瘍辺縁で周辺脳組織内にみられた。Co-option の部分では CD34 で染色される血管周囲の腫瘍細胞は SDF1 及び connexin43 に陽性であった。Co-option *in vitro* モデルを開発した。HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) は 24 時間でゲル内に管腔構造 (tube) を形成し、共培養した U87-MG は血管 tube に寄り添うように侵入した。なお手に精脳腫瘍の検体では co-option はみられなかった。

【Bevacizumab 不応例の VM と co-option】膠芽腫摘出組織の 3 つの時期

(Bevacizumab の未使用時、使用直後、不応時) の標本を使い、血管 co-option と mimicry の程度を評価した。Bev が不応性になった群では、血管密度は低下を維持しているが、co-option 及び mimicry とともに他群より増加しており新しい標的と考えられた。

【結語】本研究では、膠芽腫検体で VM と CO を定量評価し、VM と CO の *in vitro* モデルを開発した。モデルで抑制剤 (SDF-1、connexin43、chetomin) の評価を行った。さらに chetomin はマウス脳内膠芽腫モデルで増殖抑制効果を確認した。これら抑制剤は VM および CO を抑制した。VM および CO を標的とした治療は膠芽腫の血管新生抑制の抵抗性を克服する手段となりうる。

VEGF 中和抗体による膠芽腫血管新生抑制は現時点では、その抵抗性から腫瘍増殖制御の程度は限られている。本研究ではこの抵抗性に関わる血管 co-option と血管 mimicry を標的とし抑制物質を同定し、今後の膠芽腫に対する血管新生抑制療法の新規戦略を明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shingo Takano, Toshihide Tanaka, Eiichi Ishikawa, Youhei Yamamoto, Jun Takai, Masahide Matsuda, Takao Tsurubuchi, Hiroyoshi Akutsu, Akira Matsumura	4. 巻 1, supp 2
2. 論文標題 ANG1-05 PATHOGENESIS OF RESISTANCE (MIMICRY AND CO-OPTION) TO ANTI-ANGIOGENIC TREATMENT FOR GLIOBLASTOMA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology Advances	6. 最初と最後の頁 ii5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 高野晋吾	4. 巻 27
2. 論文標題 膠芽腫に対する血管新生抑制療法の課題と対処-血管co-optionとmimicry-	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn J Neurosurg (Tokyo)	6. 最初と最後の頁 723-735
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、上月映浩、杉井成志、山田依里佳、阿久津博義、松村 明。
2. 発表標題 グリオーマ低酸素状態のHIF-1 を標的とした治療効果
3. 学会等名 第38回日本脳腫瘍病理学会（ワークショップ）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、松村明
2. 発表標題 膠芽腫における血管co-optionの分子機構
3. 学会等名 第37回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、松村 明
2. 発表標題 膠芽腫における血管co-optionとmimicryの病態と分子機構の解明
3. 学会等名 第78回脳神経外科総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高野晋吾、田中俊英、石川栄一、松田真秀、鶴淵隆夫、阿久津博義、松村明
2. 発表標題 膠芽腫における血管新生抑制抵抗性因子：血管co-optionとmimicryの病態の解明
3. 学会等名 第37回日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、杉井成志、鶴淵隆夫、坂本規影、阿久津博義、松村 明
2. 発表標題 膠芽腫血管新生抑制の標的としての血管mimicry.
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍病理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、杉井成志、鶴淵隆夫、坂本規影、阿久津博義、松村 明.
2. 発表標題 膠芽腫血管新生抑制の抵抗性因子：血管co-optionとmimicry
3. 学会等名 第77回日本脳神経外科総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高野晋吾、石川栄一、松田真秀、杉井成志、松村明.
2. 発表標題 Chetominの膠芽腫血管新生抑制効果
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	加藤 幸成 (kato yukinari) (00571811)	東北大学・未来科学技術共同研究センター・教授 (11301)	
研究 分担者	山下 年晴 (yamashita toshiharu) (50400677)	筑波大学・医学医療系・助教 (12102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------