

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07694

研究課題名(和文) 癌間質細胞由来MCP-1による抗血管新生阻害剤耐性獲得の打破

研究課題名(英文) Overcoming acquisition of anti-angiogenic drug resistance by cancer stromal cell-derived MCP-1

研究代表者

原 賢康 (Hara, Masayasu)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授

研究者番号：80528860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)： 担癌患者におけるMCP-1値の測定を続けたが、担癌患者60人における血中値からはMCP-1の値に進行度との関連を認めることはできなかった。血管新生阻害剤を用いた化学療法施行患者においても経時的に血中MCP-1値を測定したが治療効果と血中値との間に相関を認めなかった。しかしながら、癌患者から分離培養したCAFを用いてMCP-1分泌についてELISAを用いて解析をしたがいずれのCAF株からもある一定の濃度のMCP-1分泌が確認できた。これらから末梢血中のMCP-1値の推移は患者の全体のMCP-1値の推移を反映してしまうため有効ではないとの結論となった。癌局所についての検討が必要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大腸癌化学療法の抵抗因子として血管新生阻害剤の関与は想定されるがそのどの因子が関与しているかを把握することは治療選択において重要と考えられる。その先駆けとして血中値からの評価も試みたが血液中の血管新生因子の値は個々で大きく異なることから判別の指標とはなりえないことが明らかとなった。今後は組織中の因子を評価することで癌化学療法の個別化を図る大きな要素となるよう明らかにしていくことが望まれる。

研究成果の概要(英文)：To clarify the relationship between angiogenetic factor and the resistance of bevacizumab, we focused on MCP-1, which is one of the angiogenetic factors. We revealed cultured Cancer-Associated Fibroblast secreted MCP-1, however, serum level of it in colorectal cancer patients were not related with the effect of the cancer treatment. In this study, we cannot clarify the efficacy of serum MCP-1 level to predict the chemotherapy effect.

研究分野：大腸癌

キーワード：血管新生因子 大腸癌

1. 研究開始当初の背景

大腸癌の化学療法を中心をなすものとして血管新生阻害剤が挙げられるが、VEGF を中和する bevacizumab は継続投与によって耐性化が出現し、その効果が減弱することが知られてきた。我々はこの継続投与によって癌間質細胞の1種である Cancer Associated fibroblast (CAF) から MCP-1 分泌が増加することを突き止めた。本研究は CAF から放出される MCP-1 がどのような機序で血管新生を来すのかを解明し、従来の血管新生抑制剤に対する耐性獲得機序の解明を目的としている。

2. 研究の目的

切除不能・再発大腸癌の化学療法は血管新生を阻害することが第一選択とされてきた。VEGF を中和する bevacizumab の登場以来、血管新生の抑制に治療の主眼が置かれてきたが、一方では長期投与で耐性が出現することが問題として挙げられている。bevacizumab は VEGF の中和抗体であるにもかかわらず、血中や腫瘍中の VEGF 値が bevacizumab の治療効果のバイオマーカーにはならず、効果予測となる他のバイオマーカーは未だ開発されていない。本研究の主目的は、既存の血管新生阻害剤で起こる耐性化の機序を明らかにすることである。CAF から放出される MCP-1 により血管新生を来すメカニズムを解明し、既存の血管新生阻害剤の治療効果と MCP-1 との関連を検討する。さらに、血中 MCP-1 濃度が血管新生阻害剤の治療効果のバイオマーカーになり得るか検証することを目的としている。

3. 研究の方法

[2019年度]MCP-1 による癌細胞、CAF からのサイトカインの変動、更には細胞におけるシグナルの変化を明らかにする。

MCP-1 投与下で大腸癌腫瘍細胞、CAF から分泌されるサイトカイン量を培養液上清から明らかにする。この手技には一度に多種類のサイトカインに対して ELISA にて解析できる multicytokine assay を使用し、それぞれの細胞からのサイトカイン、血管新生因子のタンパクレベルでの分泌量を測定する。さらには Western blotting を用いて MCP-1 投与の有無での癌細胞、CAF 内でのシグナル変化について明らかにする。更には抗 MCP-1 抗体を用いてこれらシグナルの変化が打ち消されるかを明らかにする。

癌細胞、或いは CAF から分泌される因子は癌間質相互作用としてお互いに影響しあう可能性がある。そこで で同定した癌細胞 (或いは CAF) からサイトカイン、血管新生因子を CAF (或いは癌細胞) に投与し再度同様にして multicytokine assay を施行しサイトカイン、血管新生因子の分泌量の変化を測定、癌間質相互反応によるサイトカイン、血管新生因子分泌の差異についても明らかとする。

[2020年度以降]皮下移植した腫瘍に対する bevacizumab、抗 MCP-1 抗体の効果を解析する。ヌードマウスに腫瘍を皮下移植し、ある程度成長した段階で治療を開始する。bevacizumab を用いて継続治療を施行、腫瘍容積を測定したうえで腫瘍増大がおきた段階で抗 MCP-1 抗体を投与する。一定期間治療後摘出した腫瘍を免疫染色し、腫瘍内の血管密度を各群で測定することで、CAF 由来の MCP-1 抑制による血管新生抑制作用を解析する。bevacizumab 投与中の臨床患者における血中 MCP-1 値の推移を明らかにする。Bevacizumab 治療を受けている患者の血中 MCP-1 濃度を測定し、bevacizumab 継続投与による血中 MCP-1 値の変動と治療効果を反映しているかを明らかにする。

4. 研究成果

COVID による制限もあり実施できない実験も存在した。最終的には以下の結果と結論が得られた。

担癌患者における MCP-1 値の測定を続けたが、担癌患者 60 人における血中値からは VEGF 値、MCP-1 の値に進行度との関連を認めることはできなかった。

血管新生阻害剤を用いた化学療法施行患者においても、経時的に血中 MCP-1 値を測定したが治療効果と血中値との間に相関を認めなかった。

しかしながら、癌患者から分離培養した CAF を用いて MCP-1 分泌について ELISA を用いて解析をしたが、いずれの CAF 株からもある一定の濃度の MCP-1 分泌が確認できた。これらから末梢血中の MCP-1 値の推移は患者の全体の MCP-1 値の推移を反映してしまうた

め有効ではないとの結論となった。癌局所についての検討が必要と考えられたが今回の期間では解明が得られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	志賀 一慶 (Shiga Kazuyoshi) (20747282)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・助教 (23903)	
研究分担者	高橋 広城 (Takahashi Hiroki) (30381792)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授 (23903)	

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