

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 5月 7日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592143

研究課題名（和文） 新規血管新生調節因子バソヒビンによる婦人性器がん分子標的・遺伝子治療に関する研究

研究課題名（英文） Vasohibin, a novel regulator of angiogenesis, as a useful for molecular targeted therapy and gene therapy in gynecologic malignancies

研究代表者

嵯峨 泰 (SAGA YASUSHI)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：70360071

研究成果の概要（和文）：分子細胞生物学的手法を用いた基礎的検討により、本邦で発見された新規血管新生調節因子であるバソヒビン1が、様々な婦人性器悪性腫瘍に対して、腫瘍血管新生抑制を介した腫瘍増殖抑制作用をもつことを実験的に示した。さらに、バソヒビン1を搭載したアデノ随伴ウイルスベクターの作製に成功した。バソヒビン1による婦人性器悪性腫瘍に対する分子標的・遺伝子治療の可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We showed that vasohibin-1 (VASH1), a novel regulator of angiogenesis discovered in this country, can control tumor growth through inhibition of angiogenesis in various gynecologic malignancies. Moreover, we established an adeno-associated virus vector which carries VASH1. These results suggest the possibility of molecular targeted therapy and gene therapy in gynecologic malignancies using VASH1.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：卵巣がん・子宮体がん・分子標的治療・遺伝子治療・腫瘍血管新生・バソヒビン・アデノ随伴ウイルスベクター

1. 研究開始当初の背景

バソヒビンは東北大学加齢医学研究所・腫瘍循環研究分野の佐藤靖史教授らによって発見され、2004年に世界で初めて報告された血管新生のネガティブフィードバック調整因子である。バソヒビンは生体内では VEGF などの血管新生因子の刺激により血管内皮自身から産生され、血管新生を調整する。一方、遺伝子組み換えにより生成されたバソヒビンは VEGF のみならず、FGF、PDGF、などの

様々な因子の血管新生作用を抑制し、さらには動物実験モデルの腫瘍増殖を阻害した。またバソヒビンは血管新生調整因子であることから、従来の血管新生抑制因子のような正常血管に対する影響が少なく、最近の血管新生抑制分子標的治療の臨床試験でしばしばみられる、高血圧、浮腫、腎障害、などといった副障害を引き起こしにくいとされている。

さまざまな悪性腫瘍の進展において血管新

生は重要な役割を担っている。婦人科悪性腫瘍においても、血管新生を標的とした分子標的・遺伝子治療により、腫瘍増殖、腹膜播種、転移、などを抑制し、延命が得られることをわれわれは動物実験により報告してきた。また、遺伝子治療のベクターとしてアデノ随伴ウイルス(AAV)を用いることにより、骨格筋に治療遺伝子を導入し骨格筋で治療因子を産生させ、血流を介して全身的に治療因子を循環させ、長期間、全身的に抗腫瘍効果を持続させる、悪性腫瘍の治療においては他に報告のない斬新な遺伝子治療法を考案し、動物実験によってその効果を報告した。

2. 研究の目的

バソヒビンの婦人性器悪性腫瘍に対する効果を基礎的に明らかにするとともに、バソヒビンを搭載した AAV ベクターを用いることにより、様々な血管新生因子を産生する様々な婦人性器がんに対して有効で、かつ副障害が少なくより安全な、分子標的・遺伝子治療が実現できると考え、以下の研究を企図した。

(1) バソヒビン強制発現による抗腫瘍効果の検討

様々な血管新生因子を産生する卵巣癌、子宮体癌、などの様々な婦人性器がん培養細胞にバソヒビン発現ベクターを遺伝子導入し、バソヒビン強制発現株を樹立する。強制発現株を用いたマウス皮下腫瘍、腹膜播種、肺転移、モデルを作成し、コントロールと比較することにより、バソヒビンの抗腫瘍効果を確認する。

(2) バソヒビン搭載 AAV ベクターによる抗腫瘍効果の検討

バソヒビン搭載 AAV ベクターを作成し、マウス実験モデルに対する効果を検討し、遺伝子治療の可能性を探る。

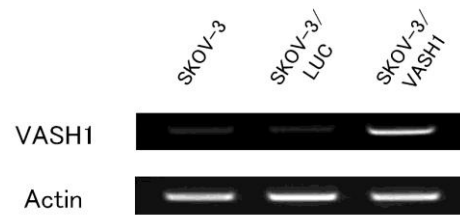
3. 研究の方法

(1) バソヒビン強制発現による抗腫瘍効果の検討

様々な血管新生因子を産生する卵巣癌、子宮体癌、などの様々な婦人性器がん培養細胞にバソヒビン発現ベクターを遺伝子導入し、バソヒビン強制発現株を樹立する。強制発現株を用いたマウス皮下腫瘍、腹膜播種、肺転移、モデルを作成し、コントロールと比較することにより、バソヒビンの抗腫瘍効果を確認する。

(2) バソヒビン搭載アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターによる抗腫瘍効果の検討

バソヒビン搭載 AAV ベクターを作成し、マウス実験モデルに対する効果を検討し、遺伝子治療の可能性を探る。

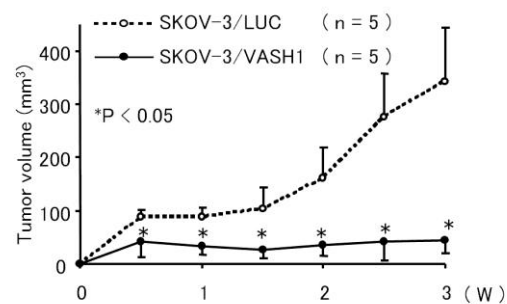


↑ 図 1 バソヒビン強制発現卵巣癌細胞株の樹立 (RT-PCR による検討)

4. 研究成果

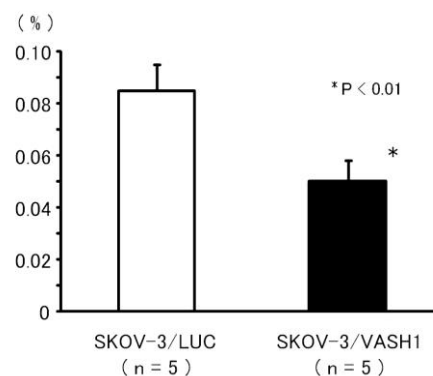
(1) バソヒビン強制発現による抗腫瘍効果の検討

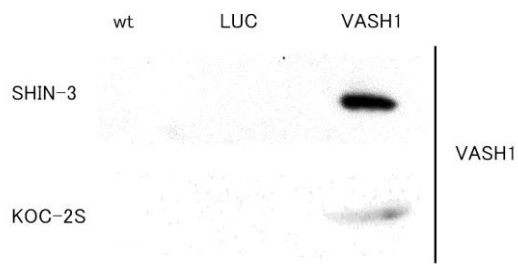
①バソヒビンを強制発現させた卵巣癌細胞株 SKOV-3 (図 1)は腫瘍血管新生が減少し(図 3)、腫瘍増殖が抑制された(図 2)。



↑ 図 2 バソヒビン遺伝子導入卵巣癌細胞株 (SKOV-3) の皮下腫瘍増殖

↓ 図 3 バソヒビン遺伝子導入卵巣癌細胞株 (SKOV-3) の皮下腫瘍内新生血管数

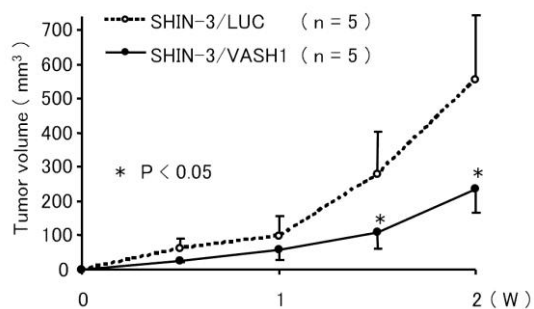




↑ 図 4 バソヒビン強制発現卵巢癌細胞株の樹立(ウエスタンブロットによる検討)

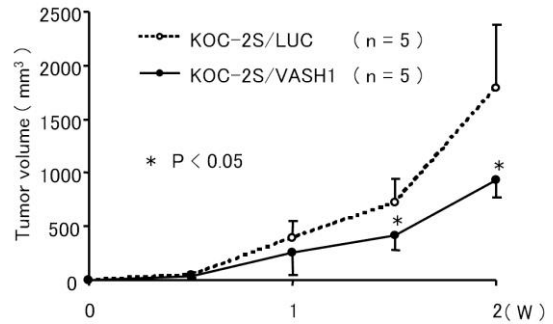
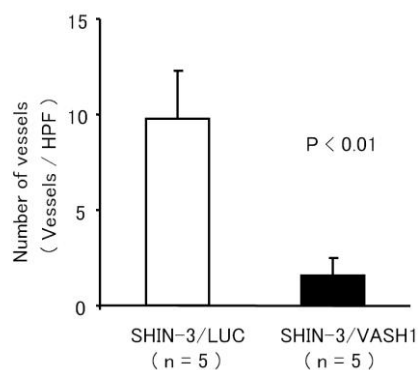
②異なる血管新生因子を産生する卵巢癌細胞に対するバソヒビンの効果

SHIN-3(VEGF 産生)および KOC-2S(PDGF 産生)(図 4)はどちらも腫瘍血管新生が減少し(図 6、8)、腫瘍増殖が抑制された(図 5、7)。



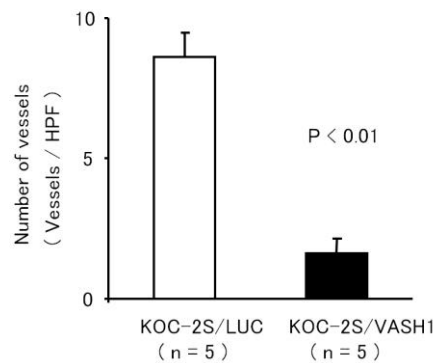
↑ 図 5 バソヒビン遺伝子導入卵巢癌細胞株(SHIN-3、VEGF 産生)の皮下腫瘍増殖

↓ 図 6 バソヒビン遺伝子導入卵巢癌細胞株(SHIN-3、VEGF 産生)の皮下腫瘍内新生血管数



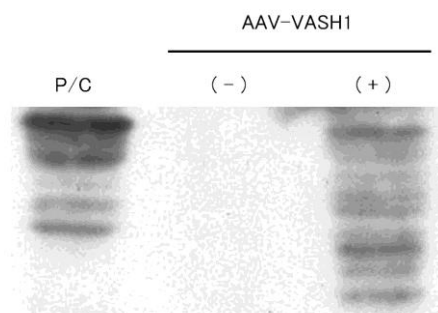
↑ 図 7 バソヒビン遺伝子導入卵巢癌細胞株(KOC-2S、PDGF 産生)の皮下腫瘍増殖

↓ 図 8 バソヒビン遺伝子導入卵巢癌細胞株(SHIN-3、VEGF 産生)の皮下腫瘍内新生血管数



(2) バソヒビン搭載 AAV ベクターの作成
バソヒビン搭載 AAV ベクター(AAV-VASH1)を胎児腎組織由来 293 細胞に感染させたところ、バソヒビンの発現が確認された(図 9)。バソヒビン搭載 AAV ベクターの作成に成功した。

↓ 図 9 AAV-VASH1 感染細胞のバソヒビン発現(ウエスタンブロットによる検討)



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)

[学会発表] (計9件)

- ① 高橋詳史、血管新生ネガティブフィードバック調整因子バソヒビンによる卵巣癌の分子標的・遺伝子治療に関する研究、第62回日本産科婦人科学会学術講演会、2010年4月24日、東京
- ② 高橋詳史、卵巣癌の腹膜播種を標的とした血管新生調整因子バソヒビン-1による分子標的・遺伝子治療、第48回日本婦人科腫瘍学会学術講演会、2010年7月9日、つくば市
- ③ 嵯峨 泰、VEGF または PDGF を産生する卵巣癌に対する血管新生ネガティブフィードバック調整因子バソヒビン1の効果、第9回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会、2010年9月10日、大津市
- ④ 高橋詳史、バソヒビン2は卵巣癌の血管新生因子であり、有用な分子標的となりうる、第9回日本婦人科がん分子標的研究会学術集会、2010年9月10日、大津市
- ⑤ 嵯峨 泰、Expression of vasohibin-1 in ovarian cancer cells suppresses intraperitoneal dissemination and extends host survival、第69回日本癌学会学術総会、2010年9月22日、大阪市
- ⑥ 嵯峨 泰、卵巣癌細胞に対する血管新生ネガティブフィードバック調整因子バソヒビン1の効果、第52回日本臨床細胞学会総会 2011年5月21日、福岡市
- ⑦ 高橋詳史、バソヒビン2は新規血管新生因子であり、卵巣癌の腹膜播種形成に関わる、第52回日本臨床細胞学会総会 2011年5月21日、福岡市
- ⑧ 小柳貴裕、子宮体癌の進展における新規腫瘍血管新生因子バソヒビン-2の役割、第52回日本臨床細胞学会総会 2011年5月21日、福岡市
- ⑨ 高橋詳史、バソヒビン-2は新規腫瘍血管新生因子であり、卵巣癌治療における有用な分子標的となりうる、第63回日本産科婦人科学会学術講演会 2011年8月30日、大阪市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

嵯峨 泰 (SAGA YASUSHI)
自治医科大学・医学部・講師
研究者番号：70360071

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：