

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791554

研究課題名（和文） 卵巣癌における抗血管新生治療耐性化機構の解明

研究課題名（英文） The mechanisms of resistance to anti-angiogenic agents
in ovarian cancer.

研究代表者

馬淵 誠士 (MABUCHI SEIJI)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00452441

研究成果の概要（和文）：

ヒト上皮性卵巣癌の中でも日本人に多いとされる卵巣明細胞腺癌において、1. VEGF が高頻度に活性化していること、2. VEGF の発現が予後と相関すること、また 3. VEGF を阻害する事による抗血管新生治療を行うと、明細胞腺癌の発育が有意に抑制されること、を証明し、米国癌専門雑誌に報告した (Mabuchi S, et al. Mol Cancer Ther, 2010)。

さらに、Bevacizumab 耐性化モデルを確立し、このモデルを用いることによって、Bevacizumab 耐性化に関与しうる VEGF 以外の血管新生促進因子を複数同定した。

研究成果の概要（英文）：

We first examined the role of VEGF as a therapeutic target in clear cell carcinoma (CCC) of the ovary, which has been regarded as a chemoresistant histological subtype. Immunohistochemical analysis using tissue microarrays of 98 primary ovarian cancers revealed that VEGF was strongly expressed both in early stage and advanced stage CCC of the ovary. In early stage CCCs, patients who had tumors with high levels of VEGF had significantly shorter survival than those with low levels of VEGF. *In vivo* treatment with bevacizumab markedly inhibited the growth of both CCC cells-derived tumors as a result of inhibition of tumor angiogenesis. These results indicate that VEGF is frequently expressed and can be a promising therapeutic target in the management of CCC. We next examined the mechanism of resistance to bevacizumab in epithelial ovarian cancer. By using a mouse model, we have identified several pro-angiogenic factors during the course of bevacizumab treatment.

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	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産科婦人科学

キーワード：上皮性卵巣癌、明細胞腺癌、VEGF、抗血管新生治療、Bevacizumab、耐性化

1. 研究開始当初の背景

血管新生は2mmを超える腫瘍の増殖に必須の現象であり、原発巣はもちろん、転移・播種巣、また初回治療後の再発巣の成長など、癌の進展の全てのステップにおいて重要な役割を果たしている。従って血管新生を標的とした抗血管新生療法は、全ての癌種において有望な治療戦略として注目されている。

卵巣癌の進展過程における血管新生の重要性は1990年代から報告されはじめている。数ある血管新生因子の中でも最も中心的な役割を果たすと考えられている VEGF に焦点をあてた研究が主に行われ、VEGF がヒト上皮性卵巣癌の50-90%に発現し、VEGF の発現が予後と相関することか示され、VEGF の治療標的としての重要性が認識された。2000年代前半に VEGF を選択的に阻害する薬剤を用いた抗血管新生治療薬が開発され、卵巣癌に対する抗血管新生阻害治療の有効性が基礎的・臨床的検討が始まった。2000年代後半に、その臨床的有効性が確認され、米国では卵巣癌に対する有効な治療として抗血管新生治療の臨床応用が始まっている。

しかしながら、これまでの研究では大きな課題が見出されている。抗血管新生治療を長期にわたり継続すると、いずれは腫瘍が再増殖すること、すなわち血管新生阻害剤に対する耐性化の獲得である。

より有効な抗血管新生治療の確立し卵巣癌の予後改善を目指すためには、いかにして抗血管新生治療に対する耐性化を克服するかということを経験においた研究が大切であると考え、本研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では抗血管新生阻害剤の中でも、最も臨床応用が進んでいる抗 VEGF 中和抗体 Bevacizumab に焦点を絞り、これに対する耐性化のメカニズムの解明とその克服を目指した研究を行う。そこで、卵巣癌に対して Bevacizumab を投与し、VEGF を阻害した結果、腫瘍内において VEGF 以外の血管新生促進因子が代償性に活性化し、腫瘍への酸素・栄養の供給路として血管新生を促進し、Bevacizumab 耐性化が起こるといふ仮説を立てその検証を行うこととした。

3. 研究の方法

(1) 日本人上皮性卵巣癌における VEGF の発現、抗 VEGF 中和抗体 Bevacizumab の有効性の検討。

耐性化のメカニズムを検討する前に、まずヒト上皮性卵巣癌 100 検体からなる Tissue Microarray (TMA) および 10 種類の卵巣癌細胞株を用い、免疫組織染色法、Western blotting 法および ELISA 法を行い、日本人の

上皮性卵巣癌における VEGF の発現、組織型による発現の違い、予後との相関を検討した。また Mose model を用い、Bevacizumab の In vivo における抗腫瘍効果を検討した。

(2) 耐性化のメカニズムを検討するための実験モデルの作成。

Bevacizumab の至適投与量および治療効果 (腫瘍縮小率) を検証した後に、引き続き Bevacizumab を継続投与し、腫瘍が再増殖しはじめる時期を特定。その時期を臨床的な耐性化の時期と判断し、その前後でどのような血管新生促進因子が代償性に活性化してくるかを検討することとした (実験モデルの作成)。

(3) Bevacizumab 投与中に、どのような血管新生促進因子が代償性に活性化してくるかの検討。

まず、bevacizumab 非投与時に卵巣癌において VEGF 以外にどのような血管新生促進因子が発現しているかを検討。免疫組織染色法、Western blotting 法および ELISA 法を行い、卵巣癌においてどのような血管新生促進因子が発現しているかを検討。続いて卵巣癌で発現が認められた血管新生促進因子のうち、VEGF 阻害治療中にその発現が増加するものを同定する。マウスへの癌細胞移植直後の癌組織、および Bevacizumab 投与中に再増殖した癌を採取し、免疫組織染色法により血管新生促進因子の発現を比較検討する。また Bevacizumab 投与中にマウスの血液を経時的に採取し、血液中に分泌された血管新生促進因子を比較することにより、どの時期にどのような血管新生促進因子が活性化するか、またその組織型による違いを見出した。

(4) 代償性に活性化する血管新生促進因子を阻害する事によって、Bevacizumab 耐性が回避できるか?の検討。

各時期に活性化してくる血管新生促進因子を選択的に阻害する分子標的治療を段階的に併用することによって抗血管新生治療に対する耐性化を克服できるかを検討する。

4. 研究成果

ヒト上皮性卵巣癌の中でも日本人に多いとされる卵巣明細胞腺癌において、(1) VEGF が高頻度に活性化していること、(2) 早期癌では VEGF の発現が患者の生存期間と有意に相関すること、(3) Bevacizumab を用いて VEGF を阻害する抗血管新生治療を行うと、明細胞腺癌の発育が有意に抑制されること、を証明し米国癌専門雑誌に報告した (Mabuchi S, et al. Mol Cancer Ther, 2010)。

さらに、Bevacizumab を持続投与し続けるこ

とによって、Bevacizumab 耐性腫瘍を作成できることを見出し（耐性化モデルの作成）、このモデルを用いることによって、Bevacizumab 耐性化に関与する VEGF 以外の血管新生促進因子を複数同定した。

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 15 件）

1. Mabuchi S, Hisamatsu T, Kawase C, Hayashi M, Sawada K, Mimura K, Takahashi K, Takahashi T, Kurachi H, and Kimura T. The activity of trabectedin as a single agent or in combination with everolimus for clear cell carcinoma of the ovary. Clin Cancer Res. 2011, in press. (査読有り)
2. Mabuchi S, Hisamatsu T, Kimura T. Targeting mTOR signaling pathway in ovarian cancer. Current Medicinal Chemistry. 2011, in press. (査読有り)
3. Kanayama T, Mabuchi S, Kimura T. Calcaneal metastasis in uterine cervical cancer: a case report and review of the literature. Eur J Gynecol Oncol. 2011, in press. (査読有り)
4. Mabuchi S, Matsumoto Y, Isohashi F, Yoshioka Y, Ohashi H, Morii E, Hamasaki T, Aozasa K, Mutch DG, and Kimura T. Pretreatment Leukocytosis Is an Indicator of Poor Prognosis in Patients with Cervical Cancer. Gynecol Oncol. 2011, in press. (査読有り)
5. Maeda M, Mabuchi S, Matsumoto Y, Hisamatsu T, Ohashi H, Kimura T. The Activity of Pegylated Liposomal Doxorubicin for Extragenital Mullerian Adenosarcoma with Sarcomatous Overgrowth: A Case Report and a Review of the Literature. Eur J Gynaecol Oncol. 2011 in press. (査読有り)
6. Mabuchi S, Kimura T: Nedaplatin, a radiosensitizing agent for patients with cervical cancer. Chemotherapy Research and Practice, 2011 in press. (査読有り)
7. Mabuchi S, Okazawa M, Isohashi F, Ota Y, Maruoka S, Yoshioka Y, Enomoto T, Morishige K, Kamiura S, Kimura T: Postoperative whole pelvic radiotherapy plus concurrent chemotherapy versus extended field irradiation for early-stage cervical cancer patients with multiple pelvic lymph node metastases. Gynecol Oncol. 2011;120:94-100. (査読有り)
8. Mabuchi S, Matsumoto Y, Morii E, Morishige K, Kimura T: The first two cases of granulocyte colony stimulating factor producing adenocarcinoma of the uterine cervix. Int J Gynecol Pathol. 2010;29:483-487. (査読有り)
9. Matsumoto Y, Mabuchi S, Muraji M, Morii E, Kimura T: Squamous cell carcinoma of the uterine cervix producing granulocyte colony-stimulating factor: a report of 4 cases and a review of the literature. Int J Gynecol Cancer. 2010;20:417-21. (査読有り)
10. Mabuchi S, Ugaki H, Isohashi F, Yoshioka Y, Temma K, Yada-Hashimoto N, Takeda T, Yamamoto T, Yoshino K, Nakajima R, et al.: Concurrent Weekly Nedaplatin, External Beam Radiotherapy and High-Dose-Rate Brachytherapy in Patients with FIGO Stage IIIb Cervical Cancer: A Comparison with a Cohort Treated by Radiotherapy Alone. Gynecol Obstet Invest 2010;69:224-232. (査読有り)
11. Mabuchi S, Morishige K, Kimura T: Use of monoclonal antibodies in the treatment of ovarian cancer. Curr Opin Obstet Gynecol. 2010;22:3-8. (査読有り)
12. Mabuchi S, Morishige K, Enomoto T, Kimura T: Carboplatin and paclitaxel as an initial treatment in patients with stage IVb cervical cancer: a report of 7 cases and a review of the literature. J Gynecol Oncol. 2010;21:93-96. (査読有り)
13. Mabuchi S, Kimura T: Treatment of ovarian cancer by monoclonal antibodies. Discov Med 2010;9:197-203. (査読有り)
14. Mabuchi S, Kawase C, Altomare DA, Morishige K, Hayashi M, Sawada K, Ito K, Terai Y, Nishio Y, Klein-Szanto AJ, et al.: Vascular endothelial growth factor is a promising therapeutic target for the treatment of clear cell carcinoma of the ovary. Mol Cancer Ther 2010;9:2411-2422. (査読有り)
15. Mabuchi S, Isohashi F, Yoshioka Y, Temma K, Takeda T, Yamamoto T, Enomoto T, Morishige K, Inoue T, Kimura T: Prognostic factors for survival in patients with recurrent cervical cancer previously treated with

radiotherapy. Int J Gynecol Cancer
2010;20:834-840. (査読有り)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬淵 誠士 (MABUCHI SEIJI)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：00452441

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：