

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 25 年 5 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890100

研究課題名（和文） 卵巣癌腹膜播種における宿主因子の作用の検討

研究課題名（英文） Analysis of the host factor which is important for ovarian cancer dissemination

研究代表者

橋本 香映（HASHIMOTO KAE）

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90612078

研究成果の概要（和文）：卵巣癌腹膜播種モデルマウスの腹水中で産生が増加している Stromal cell derived factor-1（以下 SDF-1）が卵巣癌腹膜播種に及ぼす作用について検討し、SDF-1 がヒト卵巣癌細胞株の接着および浸潤に対して促進的に作用すること、卵巣癌腹膜播種モデルマウスより摘出した腫瘍切片の免疫染色にて SDF-1 の産生源が腫瘍細胞及び線維芽細胞あるいは血管周皮細胞であることを証明した。また SDF-1 中和抗体を卵巣癌腹膜播種モデルマウスに投与すると腫瘍進展抑制が観察され生存期間が有為に延長することを証明した。

研究成果の概要（英文）：This study was focused on the effect of SDF-1 on the ovarian cancer peritoneal dissemination. Stromal cell derived factor-1 (SDF-1) increased in the ascites of ovarian cancer model mice. SDF-1 promoted adhesion and invasion of ovarian cancer cell lines in vitro. Immunostaining showed SDF-1 was secreted from vascular pericytes or fibroblasts and tumor of TOV21G cell line. SDF-1 neutralizing antibody delayed tumor growth of advanced ovarian cancer model mice and prolonged survival.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：卵巣癌、腹膜播種、SDF-1

1. 研究開始当初の背景

卵巣癌は婦人科癌の中で最も死亡率の高い

疾患である。卵巣癌が予後不良である原因の一つが術後再発である。術後再発は癌細胞の

腹腔内臓器への浸潤、つまり腹膜播種によって生じている場合が多く、予後改善のためには腹膜播種の抑制が重要である。近年、腫瘍の進展には癌細胞そのものだけでなく、癌をとりまく宿主細胞である線維芽細胞、好中球、マクロファージ、血管周皮細胞などが関与していることが報告されている。申請者は卵巣癌の腹膜播種における宿主因子に着目し、何らかの宿主因子が卵巣癌の新たな播種形成を促進しているとの仮説を立案し、癌微小環境内の宿主細胞が分泌するケモカインに焦点をあてて検討を行なうこととした。

2. 研究の目的

(1) 上記背景に基づき、既に胃がんにおいて腹膜播種病変形成に関与していることが報告されている SDF-1 について検討を行なったところ、卵巣癌腹膜播種モデルの腹水および血液ではマウス由来の SDF-1 の著明な増加がみとめられた。即ち、このモデルマウスにおいて、何らかの宿主細胞が SDF-1 を分泌し、卵巣癌細胞の播種の進展が誘導されている可能性が示唆された。もし SDF-1 の作用機序を解明できれば、卵巣癌治療における新たな治療ターゲットの発見につながるものと考え以下の実験(1-3)を立案、実行した。(2)さらにマウスでの検討結果が実査にの臨床においてどのような影響を与えているのか検討するために以下の実験(4)を立案、実行した。

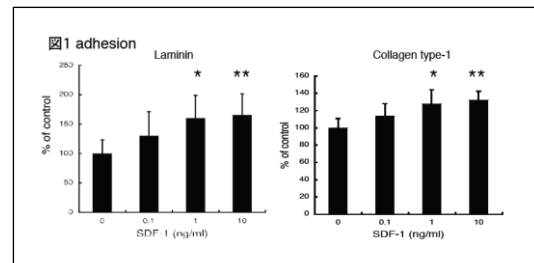
3. 研究の方法

(1)ヒト卵巣癌細胞株の接着および浸潤能に対する SDF-1 の効果の検討 ①卵巣癌細胞株における CXCR4 の発現の検討: フローサイトメトリー法にて卵巣癌細胞株の CXCR4 (SDF-1 レセプター) の発現を低酸素下および生酸素下にて検討した。②CXCR4 発現を認めた卵巣癌細胞株を用いて Boyden chamber を用いた in vitro invasion assay 及び in vitro adhesion assay で SDF-1 の作用を検討した。(2)SDF-1 中和抗体の卵巣癌腹膜播種に対する効果の検討 SKOV-3-13 細胞株を腹腔内投与することにより卵巣癌腹膜播種モデルを作成。癌細胞摂取後2週目よりマウス SDF-1 中和抗体を週2回腹腔内投与し、腫瘍増殖および生存期間について検討した。コントロールには正常ヤギ血清を用いた。(3)SDF-1 産生細胞の同定 マウス腹腔内腫瘍切片を用いて、マウス SDF-1 抗体と CD11b 抗体、 α SMA 抗体、CD31 抗体、Vimentin 抗体でそれぞれ2重染色を行ない、両者の局在を検討した。(4)ヒト卵巣癌臨床検体における SDF-1、CECR4 の発現と予後に与える影響の解析 共同研究施設である大阪府立成人病センタ

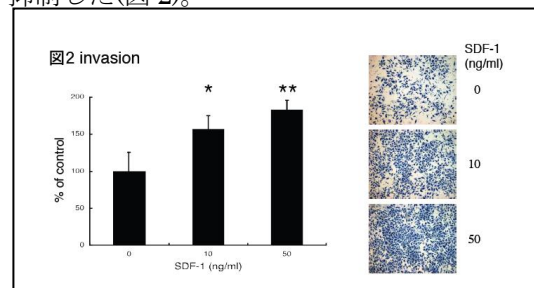
一の保有する卵巣癌病理組織標本も用いて Tissue Microarray を作成し予後検討を行なった。

4. 研究成果

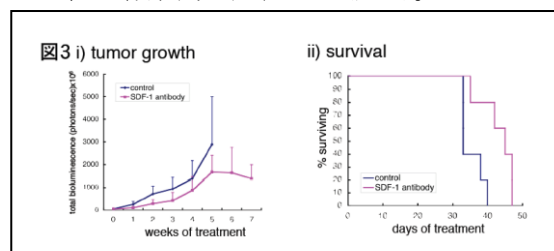
(1)ヒト卵巣癌細胞株の接着および浸潤能に対する SDF-1 の効果の検討 ①フローサイトメトリー法を用いて卵巣癌細胞株における CXCR4 の発現を検討した。SKOV-3、OVCAR3、Caov-3、IGROV1、TOV21G を用いて検討を行なったところ、SKOV-3、TOV21G にて CXCR4 の発現を認めた。低酸素下での CXCR4 の発現増強についても検討したが、生酸素下と有為差はなかった。②CXCR4 陽性卵巣癌細胞株 SKOV-3、TOV21G を用いて SDF-1 が卵巣癌細胞株の接着に与える影響を in vitro adhesion assay にて検討した。SDF-1 は濃度依存性に卵巣癌細胞株の接着を促進した(図1)。



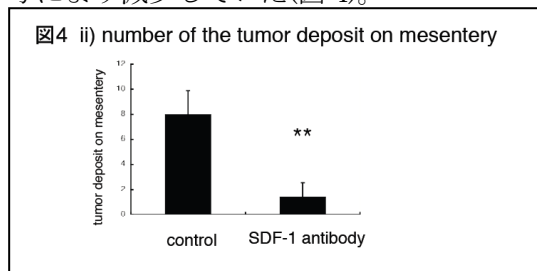
また Matrigel コート Boyden chamber を用いた in vitro invasion assay でも同様に SDF-1 は濃度依存性に卵巣癌細胞の浸潤を抑制した(図2)。



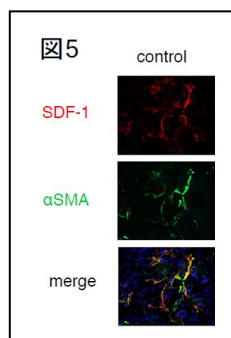
(2) SDF-1 中和抗体の卵巣癌腹膜播種に対する効果の検討 SKOV-3 細胞にホタルルシフェラーゼを安定的に発現させた卵巣癌細胞株 SKOV-3-13 を用いて、卵巣癌腹膜播種モデルマウスにおける腹膜播種の進展に対する SDF-1 中和抗体の作用を検討した。SDF-1 投与マウスでは腫瘍増殖が抑制され、生存期間も延長した(図3)。



また大網における播種病変数も SDF-1 投与により減少していた(図 4)。



(3) SDF-1 産生細胞の同定 (2)の検討の際採取したマウス腫瘍切片を用いて蛍光 2 重染色にて SDF-1 と局在が一致する細胞が何であるか検討した。TOV21G 移植モデルでは腫瘍そのものから SDF-1 が著明に分泌されており、検討困難であった。SKOV-3-13 を用いて行なった検討では、SDF-1 は α SMA と局在が一致しており、SDF-1 がマウスの間質細胞から分泌されていることを示した。またその間質細胞の腫瘍内の局在から血管周皮細胞であることが推測された(図 5)。



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 1 件)

Francia G, Shaked Y, Hashimoto K, Sun J, Yin M, Cesta C, Xu P, Man S, Hackl C, Stewart J, Uhlik M, Dantzig A. H, Foster S, Kerbel R. S. Low-dose metronomic oral dosing of a prodrug of Gemcitabine (LY2334737) causes anti-tumor effects in the absence of inhibition of systemic vasculogenesis. Mol Cancer Ther. 11:680-689, 2012.

[学会発表] (計 4 件)

久松武志, 馬淵誠士, 河野まひる, 橋本香映, 磯部晶, 澤田健二郎, 木村正.

上皮性卵巣癌における mTOR complex 2 (mTORC2) の発現とその臨床的意義の検討. 第 64 回日本産科婦人科学会学術講演会. 兵庫 4.14 2012.

大八木知史, 澤田健二郎, 木瀬康人, 橋本香映, 馬淵誠士, 上浦祥司, 木村正. 卵巣癌組織における Integrin $\alpha 5$ の発現が予後に与える影響の解析. 第 64 回日本産科婦人科学会学術講演会. 兵庫 4.14 2012.

橋本香映, 澤田健二郎, 磯部晶, 大八木知史, 木瀬康人, 馬淵誠士, 木村正. 卵巣癌癌性腹膜炎モデルにおける新規低分子 IKK 阻害剤 (IMD-0540) の有効性の検討. 第 64 回日本産科婦人科学会学術講演会. 兵庫 4.14, 2012.

久松武志, 馬淵誠士, 河野まひる, 橋本香映, 磯部晶, 澤田健二郎, 木村正. 上皮性卵巣癌における mTOR complex 2 (mTORC2) の発現とその臨床的意義の検討. 第 52 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会. 東京 7.19, 2012.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 橋本 香映
(HASHIMOTO KAE)
研究者番号：90612078

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：