

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 元 年 5 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20431

研究課題名（和文）がんの進展に伴う腫瘍血管内皮マーカーの発現ダイナミクスの解明

研究課題名（英文）Breakthrough of expression dynamics in tumor endothelial cells markers during cancer development

研究代表者

松田 光平（Matsuda, Kohei）

北海道大学・大学病院・医員

研究者番号：10770563

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では腫瘍血管内皮細胞（TEC）において特異的に発現が亢進しているTECマーカーの発現変動を解析した。TECマーカーの一つであるbiglycanは患者の予後不良と相関していること、マウス腫瘍モデルにおいて抗がん剤治療により発現が更新すること、肺転移が認められる時期に発現が更新することを見出し、診断マーカーとしての可能性を示した。担癌マウスに血管新生阻害剤を投与すると、正常血管化と腫瘍の縮小傾向を認めたが、長期投与後には腫瘍の増大や血管の未熟化が観察されるなど臨床像と同様であった。一方、複数のTECマーカーが発現変動し、TECマーカーが腫瘍組織内の微小環境を反映している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、血管新生阻害剤の長期使用による悪性化・耐性の問題も報告されはじめ、腫瘍血管阻害療法には適切な時期があると考えられている。本研究によりTECマーカーは腫瘍の縮小、増大、転移の際に経時的に発現が変動するなど、腫瘍組織内の微小環境を反映している可能性が示唆された。このことからTECマーカーを用いたコンパニオン診断により、患者、薬剤、投与時期を選択した上で実施する新しい個別化血管新生阻害療法への応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the dynamics of tumor endothelial cell (TEC) markers which were highly expressed in TECs compared with normal endothelial cells. We found that the expression of biglycan, one of the TEC markers, were correlated with poor prognosis of cancer patients. In mouse tumor model, biglycan was upregulated by anticancer drugs treatment and was high when tumor cells metastasize to lungs. These results suggested that biglycan can be a prognosis marker. Antiangiogenic agents treatment decreased tumor size and improved vascular normalization in tumor-bearing mouse, however, tumor progression and abnormal phenotype of tumor vascular were observed after long-term antiangiogenic therapy, which were matched to clinical phenomenon. The expression of some TEC markers was changed by antiangiogenic drugs treatment, which suggested that TEC markers reflect the condition of tumor microenvironment.

研究分野：口腔外科

キーワード：がん 腫瘍血管 マーカー

1. 研究開始当初の背景

がんは現在日本における死因第1位であり、国民の3人に1人が罹患するといわれている。このような状況下、近年ではがんの栄養や酸素を供給する新生血管を標的とする血管新生阻害療法が注目を集めている。血管新生阻害療法は全てのがんに共通する血管新生を標的としているため、多くのがんで既存の抗がん剤と併用した際の上乗せ効果が認められている（bevacizumab（アバスタ）など）。しかし、bevacizumabは正常血管にも必須のVEGFシグナルを遮断するため、副作用の問題が明らかとなっており、またコンパニオン診断薬がないことから薬剤投与を終了する目安がないという問題が指摘され始めている。例えば抗VEGF剤の長期使用により、本来の目的である血管の正常化を乗り越えて、組織が過度に虚血となって低酸素環境になり、がん細胞の上皮間葉転換（EMT）など、がんが増悪することなどが報告されている。このように抗VEGF療法には使用に適した時期があるといわれており、そのため腫瘍血管をモニタリングする必要性が認識され始めた。しかしながら、VEGFは全身の血管で発現することからコンパニオン診断薬の開発は困難とされている。申請者らのグループはこれまで技術的に困難と考えられていた腫瘍血管を構成する腫瘍血管内皮細胞（Tumor endothelial cell: TEC）の分離・培養に世界に先駆けて成功し、マウス移植腫瘍ならびにヒトのがん臨床検体由来の初代培養腫瘍血管内皮細胞を樹立した（Cancer Res 2004, Am J Pathol 2009 など）。腫瘍血管内皮細胞は正常血管内皮細胞（Norma endothelial cell: NEC）とは異なる性質（増殖能・遊走能）を持つことを明らかにした（Matsuda et al, Biochem Biophys Res Commun 2010 など）。腫瘍血管内皮細胞は正常血管内皮細胞とは異なる遺伝子発現プロファイルを持つことも見出し、これまでいくつかの腫瘍血管内皮特異マーカーを同定し報告してきた。これらのTECマーカーは特異性が高く副作用の少ない血管新生阻害療法の新規標的分子として期待される。さらに申請者らは低転移腫瘍と高転移腫瘍の血管は、血管の成熟度や血管密度などが異なり、それぞれの腫瘍組織から分離培養された血管内皮細胞間にはTECマーカー発現量などに違いがあることを見出し、がんの悪性度による腫瘍血管の多様性を初めて報告した（Ohga, et al. Am J Pathol 2012）。つまり、腫瘍血管内皮細胞はがん微小環境の影響を受けていることが示唆された。

2. 研究の目的

腫瘍血管内皮はがんの病態や病期、がん治療の経過においても違いが見られるのではないかと考えた。多様な腫瘍血管内皮の状態をモニタリングすることが可能となれば、適切な時期と患者を選択した個別化血管新生阻害療法が可能となる。本研究では、腫瘍血管内皮の発現ダイナミクスをモニタリングすることが可能なコンパニオン診断薬の開発を目指して腫瘍血管内皮の遺伝子発現ダイナミクスを解析する。

3. 研究の方法

(1) ヒト血液検体における腫瘍血管内皮マーカーの検出: これまでに同定されたマウスTECマーカーのうちBiglycanなどの分泌タンパクについて、がん患者ならびに正常ボランティアの血液検体を用いてその血中レベルを解析する。TECマーカーのレベルをELISAなどで計測し、がん診断マーカーとしての有用性を検討する。ヒトの血清に検出されるTECマーカーは、肉腫を含む多くのがんに共通した早期診断マーカーとして有望である。また、病期や血管新生阻害療法治療効果の診断など、腫瘍血管新生モニタリングにも有用と考える。(2) がんの進展・治療経過における腫瘍血管内皮マーカーの経時的な発現変動解析: 実験動物を用いて、経時的なTECマーカー発現変動を解析する。TECマーカーが腫瘍の大きさと浸潤、転移巣の有無や大きさなどでどのように変化しているかを解析する。また、原発巣と転移巣におけるTECマーカーの発現の差を解析する。その後、ヒト腫瘍病理検体においてその発現パターンの差異を確認する。次に、抗VEGF療法や他のmulti-kinase inhibitorなどの血管新生阻害療法に伴うTECマーカー発現の変動についてマウス腫瘍モデルを用いて解析する。このことによって、各々の血管新生阻害剤によって適切な治療時期の把握を目指す。(3) 腫瘍血管内皮マーカーのヒト腫瘍血管における発現解析: これまでにピックアップされたマウスTECマーカーの発現解析をin situ hybridizationや免疫染色により行う（腎がん、肺がん、大腸がん、胃がん、口腔がんのパラフィンならびに凍結切片）。正常組織としてはヒト正常部摘出組織切片や組織アレイスライドを用いる。siRNAを用いて血管内皮の増殖能、遊走能、管腔形成能への影響を通して検討する。ヒトにおいても腫瘍血管特異性の高いものを、以降の解析ならびに実用化へ向けての研究につなげる。作成した治療薬のスクリーニングにはヒト組織から分離されたTEC（TECマーカーをすでに発現している）を、正常コントロールとしてはNECを用いる。マーカーの細胞内発現局在によって作製した治療薬のスクリーニングには腫瘍血管内皮細胞と正常血管内皮細胞を用

いる。

4．研究成果

本研究では腫瘍血管内皮細胞（TEC）において特異的に発現が亢進している TEC マーカの発現変動を解析した。TEC マーカの一つである biglycan は患者の予後不良と相関していること、マウス腫瘍モデルにおいて抗がん剤治療により発現が更新すること、肺転移が認められる時期に発現が更新することを見出し、診断マーカーとしての可能性を示した。担癌マウスに血管新生阻害剤を投与すると、正常血管化と腫瘍の縮小傾向を認めたが、長期投与後には腫瘍の増大や血管の未熟化が観察されるなど臨床像と同様であった。一方、複数の TEC マーカが発現変動し、TEC マーカが腫瘍組織内の微小環境を反映している可能性が示唆された。

5．主な発表論文等

なし。

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等：なし。

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。