

令和 2 年 7 月 13 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11860

研究課題名(和文) 癌の新生血管を正常化させるサイトカインCXCL14の臨床的意義

研究課題名(英文) Clinical significance of CXCL14, a cytokine that normalizes cancer neovascularization

研究代表者

生駒 丈晴 (Ikoma, Takeharu)

神奈川県大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：10638290

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々はCXCL14が強力な癌抑制効果を示すサイトカインであることを証明した。また、CXCL14トランスジェニックマウスを用いた扁平上皮癌細胞移植実験では、腫瘍が定着するものの組織が大きくなること、病理学的検討で腫瘍内における血管が少ないこと、を明らかにしている。癌抑制性サイトカインCXCL14は、SDF-1、VEGF、IL-8、bFGF、IP-10などの癌の血管新生に関与する分子の機能阻害作用を有することが報告されており、血管新生と関連すると思われる血管内皮細胞とCXCL14関連を検討するために、CXCL14の遺伝子発現変動をマイクロアレイ解析やデータマイニングデータをもとに解析を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子標的治療薬・セツキシマブは、単剤ではなく、従来の抗がん剤と併用することで抗腫瘍効果を示すことが明らかとなっている。なぜ併用され始めたかを文献的に調べてみたものの、確定的なものは存在せず、まとめると「併用したら効果があった」といったものであった。我々はこれまでに、セツキシマブ投与時に癌細胞内でCXCL14の発現の変動がセツキシマブの抗腫瘍効果に関与することを明らかにしている。CXCL14が癌組織内での血管の正常化に関与することが証明できれば、新たなCXCL14の機能解明のみならず、セツキシマブと従来の抗がん剤の併用療法の意義を証明するものとなりうる。

研究成果の概要(英文)：We have previously demonstrated that chemokine ligand 14 (CXCL14) possesses potent tumor-suppressive activity. Furthermore, a transplantation experiment where squamous cell carcinoma cells were transplanted on to the head and neck of CXCL14 transgenic mice revealed that although the tumor was established, the tissue did not grow. Moreover, pathological examination of the tissue showed the presence of a few blood vessels inside the tumor. Reports have indicated that the tumor suppressor CXCL14 has an inhibitory effect on molecules involved in cancer angiogenesis, such as SDF-1, VEGF, IL-8, bFGF, and IP-10. Fluctuation in CXCL14 gene expression, based on microarray analysis and data mining is being investigated to evaluate the relationship between CXCL14 and vascular endothelial cells that might be associated with angiogenesis.

研究分野：口腔外科

キーワード：CXCL14 サイトカイン 血管新生

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

CXCL14の抗腫瘍メカニズムの解明は、本研究施設において複数のチームで遂行されている。我々の研究チームは、CXCL14トランスジェニックマウスを用いて、発癌、癌の増殖そして転移に至るまで、各段階でCXCL14が癌に対して抑制的に働くことを証明している (Scientific Reports-Nature.13;5 9083, 2015)。我々以外の他の研究チームもCXCL14による強力な癌抑制作用を解明に対して精力的であり、サイトカイン同士の結合について研究が盛んである。Thomas D. Shellenbergerらは、VEGFをはじめとしたいくつかの血管新生因子に対してCXCL14が抑制的に働くことを見出したが、そのメカニズムについては詳細に報告されていなかった。

癌の血管新生メカニズムは、癌細胞自身が栄養不足を認識すると血管新生因子を放出することで、周囲に存在する血管内皮細胞のみが異常増殖する。結果として相対的に血管内皮細胞と取り巻く血管周皮細胞が少なくなり幼弱な新生血管で癌組織は発育することとなる。この幼弱な新生血管は都合よくできており、血管周皮細胞が少ないため、物質透過性が亢進し組織間圧が高まる。結果として酸素や糖などの栄養分は癌組織に到達するが抗癌剤は到達しにくい状況となり我々臨床家を悩ませることとなる。血管新生抑制に着目した癌治療の理想は、血管内皮細胞の増殖能のみ減弱させ新生血管を選択的に退縮させること、すなわち癌組織内の血管を正常化させることである。近年使用されているVEGFの選択的阻害薬ベバシズマブの目的は、まさに血管の正常化を図ることで、乳癌や大腸癌に対し従来の抗癌剤と併用することで効果があると報告がある。しかし血管新生に関わる分子はVEGFのみならず複数あり、それらをまとめて阻害することは困難である。そこで我々はVEGFのみならず複数の血管新生因子に非特異的に結合するCXCL14の血管新生抑制効果に着目しそのメカニズムを解明することを目的とした。また、我々の研究チームはセツキシマブが癌組織内でCXCL14の発現を上昇させることを明らかにしている (Oncogenesis 11;5(7) 2016)。癌の新生血管を正常化させることは、抗がん剤の癌組織への移行性に重要であり、従来の抗がん剤とセツキシマブの併用療法の有用性を証明する手掛かりになると考えられた。

2. 研究の目的

我々は、2006年にサイトカインCXCL14が強力な癌抑制性ケモカインであることを初めて明らかにしてから (Biochem Biophys Res Commun. 348. 406-412 (2006)) 現在に至るまで、CXCL14の抗腫瘍効果メカニズムの解明について研究を続けている。一言で癌の抑制といってもそのメカニズムは多岐にわたるため、CXCL14トランスジェニックマウス及びノックアウトマウスを作成することで検討することとした。 (Transgenic Res. 19. 1109-1117 (2010))。興味深いことに、CXCL14トランスジェニックマウスに頭頸部扁平上皮癌細胞を移植した場合、定着するものの腫瘍組織は大きくならず、病理学的検討の結果、腫瘍内における血管が少ないことが明らかとなった。本研究結果からCXCL14には血管新生を阻害する作用があり、癌組織の成長を抑制する重要な分子であることが証明された。CXCL14には受容体が存在せず、癌の増悪化にかかわる何らかのサイトカインに結合し機能を発揮するとの意見もある。このことから、我々はいくつかの血管新生に関与する分子との結合に着目し、そのメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

血管内皮細胞に対するCXCL14の作用を網羅的に解析する

販売しているリコンビナントCXCL14は大腸菌に作成させたヒトCXCL14であり、たんぱく質の修飾が十分でないためかCXCL14の活性を有するものがほとんど販売されていない。そこで我々は、HEK293細胞にCXCL14を過剰発現させたものを使用し、HUVECに作用させることで血管新生や、免疫に関係する遺伝子の発現が上昇する結果を得ている。我々はCXCL14ノックアウトHSC-3細胞をすでに獲得済みである。そこで平成29年度は、HSC-3細胞、CXCL14ノックアウトHSC-3細胞の培養上清を使用しHUVECに作用させた際の遺伝子発現の変動についてマイクロアレイ解析を行う。本研究とかかわる可能性のある遺伝子群を抽出後、最終的にはCXCL14ノックアウトHSC-3細胞に発現ベクターを導入し、遺伝子発現変化が逆の動きをするかどうかを検討する。この遺伝子変動についてはデータマイニングを行い整理する。

CXCL14と血管新生因子の結合能についての解析

データマイニングで得られた情報からCXCL14や血管新生に関連性が強く、発現変動を示す遺伝子群について、real-time PCR法等を用いて検討する。マイクロアレイによる遺伝子発現変動が、CXCL14の血管新生因子 (VEGFなど) への結合による阻害によるものと考えられた場合は、免疫沈降法を用いて結合能について検討する。さらに血管内皮細胞の増殖能及び運動能へのCXCL14の効果は、セルカウント、MTTアッセイ及びスクラッチアッセイで検討する。

* 研究計画を遂行するための研究体制について

我々が行う実験手法についてはすべて確立されており、またナラプロテクノロジーズとのデータ解析については、他の研究 (CXCL14の転写因子の検索) で確認済みである。 (Ikoma

4 . 研究成果

これまで我々は CXCL14 が強力な癌抑制効果を示すサイトカインであることを証明している。また CXCL14 トランスジェニックマウス用いた頭頸部扁平上皮癌細胞の移植実験では、腫瘍が定着するものの組織が大きくなること、病理学的検討の結果、腫瘍内における血管が少ないことを明らかにしている。ターゲットとする癌抑制性サイトカイン CXCL14 は、SDF-1、VEGF、IL-8、bFGF、IP-10 などの癌の血管新生に参与する分子の機能阻害作用を有することが報告されている。我々は血管新生と関連すると思われる血管内皮細胞と CXCL14 関連を検討するために、CXCL14 の遺伝子発現変動について、マイクロアレイ解析やデータマイニングデータをもとに解析を進めた。

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	小林 優 (Kobayashi Masaru) (00162024)	神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・教授 (32703)	