

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：33303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15607

研究課題名(和文)高転移性ルイス肺癌における血管内皮細胞を模倣した腫瘍擬似血管形成メカニズムの解明

研究課題名(英文)Molecular mechanisms of vasculogenic mimicry in high-metastatic Lewis lung carcinoma

研究代表者

高辻 英仁(齋藤)(SAITO-TAKATSUJI, Hidehito)

金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号：40768959

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):腫瘍血管を抑制する抗がん剤に抵抗性を持つ腫瘍がどのように血管を形成し増殖するのかを明らかにするため、血管内皮増殖因子(VEGF)を阻害する性質を持つ腫瘍細胞を作成した。その結果、VEGFなしで増殖した腫瘍内には腫瘍血管が誘導され、しかも高転移性の腫瘍にみられる類洞様血管が構築されていた。さらに、この腫瘍血管はVEGF抵抗性を持たない腫瘍血管とは異なり、リンパ管系の遺伝子発現が亢進しリンパ管様の形質を獲得することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで腫瘍血管をターゲットとしたがん抑制戦略が提唱され、血管新生機能を持つVEGFを抑制する抗VEGF抗体抗がん剤等が開発されてきたが、単独では抗腫瘍効果の見られないがんが多く存在する。本研究によって作成した腫瘍細胞がVEGF阻害剤抵抗性の腫瘍モデルとして利用可能であることが確かめられたことから、抗VEGF抗体抗がん剤抵抗性を獲得する分子メカニズムの解明、そしてVEGFを標的とした抗がん剤抵抗性腫瘍の治療戦略の開発につながるものと期待される。

研究成果の概要(英文):We created tumor cells with the property of inhibiting vascular endothelial growth factor (VEGF) to clarify how tumors that are resistant to antitumor drugs, which suppress tumor blood vessels, form vessels and grow. As a result, tumor blood vessels were induced in the tumor that grew without VEGF, and sinusoidal blood vessels that found in highly metastatic tumor were constructed in that. Furthermore, it was revealed that these tumor blood vessels, unlike tumor blood vessels that don't have VEGF resistance, have increased expression of lymphatic system genes and acquire lymphoid vessels-like traits.

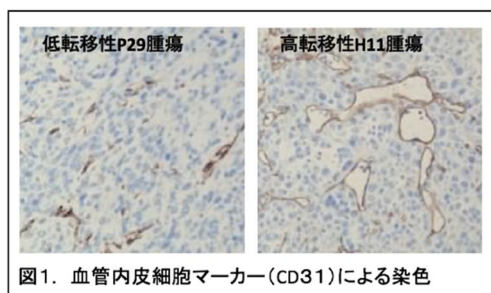
研究分野：医歯薬学

キーワード：腫瘍血管 擬似血管

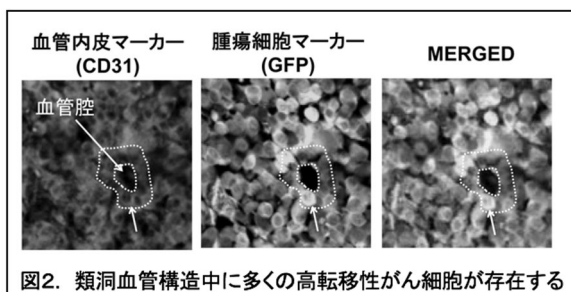
1. 研究開始当初の背景

(1)がんの増殖に必要な酸素・栄養素を供給する腫瘍血管を作らなければがんは抑制できるという Judah Folkman の提唱から、腫瘍血管をターゲットにしたがん抑制戦略が取られ、VEGF を標的にした血管新生阻害剤が開発されてきたが、当初の期待ほど奏功しているとは言い難い。その理由の1つとして、腫瘍細胞自身が血管様の構造を作りホストの血管網に接続する擬似血管によって VEGF に依存しない細胞増殖を行なっているために、血管新生阻害剤の効果が低いと考えられている。

(2)我々はこれまでマウス・Lewis 肺がん細胞由来のがん細胞を 100 回近く繰り返し皮下移植・転移腫瘍形成して 2 種類の細胞株 (低転移性 P29 細胞、高転移性 H11 細胞) を樹立した。これらの作る一次腫瘍内に形成される腫瘍血管には大きな違いがあり、低転移性 P29 腫瘍内には典型的な毛細血管が形成されるのに対し、高転移性 H11 腫瘍には不連続な類洞様構造をもつ血管が形成され、いつかの血管は腫瘍自身が血管様の管腔構造を作ること明らかにしている。



(3)GFP 標識した高転移性 H11 細胞を用いて腫瘍を作ると、類洞血管構造中に多くの GFP 陽性細胞が存在し、高転移性腫瘍には典型的な腫瘍擬似血管が形成されていることが明らかになった。



2. 研究の目的

(1)高転移性 Lewis 肺癌が血管内皮細胞を模倣した類洞様の擬似血管 (vasculogenic mimicry) を形成する分子メカニズムを解明する。

(2)(1)の知見に基づき、擬似血管を抑制する手法を開発し、血管新生阻害剤抵抗性の腫瘍に対する新たなアプローチを見出す。

3. 研究の方法

(1)低転移性 P29 細胞、高転移性 H11 細胞をそれぞれマウス皮下に移植して一次腫瘍を作らせ、免疫組織染色した。

(2)皮下移植により作成した一次腫瘍塊より血管内皮細胞、血管様細胞を FACS により単離し、その血管内皮細胞の遺伝子発現の違いを解析した。

(3)腫瘍の VEGF 阻害剤抵抗性獲得に至る血管構造の変化に注目して、VEGF 阻害剤として利用されている VEGF-Trap を安定発現する Lewis 肺がん細胞を作成し、VEGF 阻害剤存在下での腫瘍組織形成の違いを解析した。

(4) 血管のみで tdTomato タンパク質を発現するマウス (VE-cadherin-Cre; floxed-Stop-tomato) を宿主に用い、GFP でラベルした腫瘍細胞を移植することで腫瘍と宿主血管を容易に判別できる系を構築し、フローサイトメーターでそれぞれ画分を分離し、それぞれの腫瘍細胞と血管内皮細胞の網羅的遺伝子発現プロファイルを解析した。

4. 研究成果

(1) 方法(1)の結果、それぞれの腫瘍組織の構造の違いおよびそれぞれの細胞が発現する細胞外マトリックスの種類の違いを明らかにした。

(2) 方法(2)の結果、類洞を形成する腫瘍で特に強く発現する遺伝子群を明らかにした。

(3) 方法(3)の結果、VEGF 阻害剤として利用されている VEGF-Trap を導入したルイス肺がん細胞が作る一次腫瘍は、ベクターコントロールを導入した腫瘍と比べて血管構造に明らかな違いがあり、VEGF-Trap 導入腫瘍は正常血管様の毛細血管構造を示し、腫瘍組織内壊死も抑制されていた。ところが、腫瘍の増成は VEGF-Trap によって全く影響を及ぼさないどころか、むしろ増殖が亢進していた。

(4) 方法(4)の結果、VEGF-Trap 存在下で増成した腫瘍には VEGF 阻害剤が存在するにも関わらず多くの腫瘍血管が存在することを明らかにし、VEGF 阻害剤抵抗性の腫瘍モデルとして利用可能であることを確かめた。その腫瘍内に誘導された腫瘍血管は当初の予想通り高転移性ルイス肺癌で見られた類洞様血管が構築されていた。また、VEGF 阻害剤存在下の腫瘍から単離した血管内皮細胞はコントロールの腫瘍血管と異なる遺伝子発現パターンを示し、特に、リンパ管系遺伝子の発現が亢進していることを明らかにした。この結果は我々がこれまでに見出したルイス肺癌より樹立した悪性度の高い高転移性腫瘍でリンパ管系遺伝子の発現が高いという結果と一致していた。このことから VEGF 抑制剤存在下では腫瘍血管内皮細胞はリンパ管様の形質を獲得すると考えられた。

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------