

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08720

研究課題名(和文)抗VEGFR2抗体投与後早期のVEGF-A上昇の臨床的意義と新たな治療戦略の開発

研究課題名(英文)Clinical Significance of Early VEGF-A Elevation Following Ramucirumab Based Chemotherapy in Gastric Cancer

研究代表者

若槻 尊 (WAKATSUKI, Takeru)

公益財団法人がん研究会・有明病院 消化器化学療法科・医長

研究者番号：60443876

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で、胃癌における血管新生阻害使用時に予後が悪い症例を治療前に同定し得る遺伝子の多型を同定した。さらに、マウスを用いた検討で、血管新生因子とその受容体を同時に遮断する抗体を併用した治療法は、それぞれを単剤で使用するより抗腫瘍効果が大きく、有望な治療法である可能性が高い。いずれも、今後の更なる検証が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

VEGF-Aは血管新生の亢進だけでなく、腫瘍免疫の抑制にも関与することが明らかとなり、血管新生阻害剤は腫瘍免疫の改善にも貢献する。本研究で導かれた抗VEGF-A抗体/抗VEGFR2抗体併用によるVEGF-A/VEGFR2経路の二重阻害療法は、より高い血管新生阻害作用のみならず腫瘍免疫の改善も期待され、新たな治療選択肢として有望である。現在、新規医師主導治験実施の準備を行っている。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to identify the SNPs which predict the patients whose plasma VEGF-A levels are high after ramucirumab administration. Forty-two patients were enrolled in this study with the median PFS and OS was 4.1 and 11.0 months, respectively. The SNPs, VEGFR2 rs10013228 A>G (p=0.055), rs11133360 T>C (p=0.017), and rs2071559 A>G (p=0.072), were associated with higher plasma VEGF-A levels early after ramucirumab administration, but none of them were associated with survival. Instead, the SNPs potentially associated with worse prognosis were VEGFR1 XX with HR 2.23, p=0.070 for PFS and HR 3.10, p=0.030 for OS, and VEGFR2 YY with HR 2.11, p=0.093 for PFS. In preclinical mouse model, the combination therapy of anti-VEGF-A antibody and anti-VEGFR2 antibody showed higher antitumor efficacy compared to each monotherapy. The ligand and receptor dual blockade using antibodies in angiogenesis may be a promising therapy, and clinical trials are currently being prepared.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：胃癌 ラムシルマブ 血管新生阻害剤 SNPs バイオマーカー VEGF-A/VEGFR2経路の二重阻害療法

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

根治切除不能進行・再発胃癌症例に対しては、全身化学療法が施行されているが、その予後は平均1年前後と満足できるものではない。近年、胃癌においても血管新生阻害剤の有用性が示され、ヒト抗 VEGFR2 抗体であるラムシルマブは、進行胃癌の2次治療において全生存期間の有意な延長を認めた。2015年6月に本邦で胃癌における承認が得られ、以降、大腸がん、肺がんにおいても広く用いられている。これまでもラムシルマブの使用に伴い、早期に血漿 VEGF-A が上昇する事が報告されていたが (Andrew CCR 2013)、上昇した VEGF-A の産生由来やその臨床的意義については不明であった。

最近、申請者らは進行胃癌の2次治療でラムシルマブ併用化学療法が施行された症例を対象に、治療前および投与後第8日目に血漿を採取し以下の結果を得た。投与後第8日目の血漿 VEGF-A 値はベースラインと比較し有意な上昇を認める、一方、この変動はパクリタキセル単剤群には認められない (Figure 1)。投与後第8日目の血漿 VEGF-A 値と生存期間には負の相関を認め ($r=-0.352$, $p=0.024$)、投与後早期の VEGF-A 値が高い症例の予後は有意に不良であった (HR 2.77 95%CI 1.39-5.51 $p=0.004$) (ASCO-GI 2108) (Figure 2)。腫瘍を移植していないヌードマウスにマウス抗 VEGFR2 抗体 (DC101) を投与すると、マウス由来の VEGF-A が上昇する事を確認し、更に VEGF-A を高発現するヒト胃癌細胞株を移植したのち DC101 を投与しても、ヒト由来の VEGF-A に変動は見られずマウス由来の VEGF-A のみ上昇が認められた (未提示)。

以上よりラムシルマブ投与後早期の血漿 VEGF-A 値は予後と相関し、この上昇には宿主の内因性因子が関与する可能性がある事から、ラムシルマブの治療効果には宿主の遺伝的素因が影響する可能性が示唆される。また治療後早期の VEGF-A の著明な上昇がラムシルマブの早期耐性に関与している可能性が推測される事から、VEGF-A 中和抗体とラムシルマブを併用する事で早期の治療耐性を克服できる可能性がある。

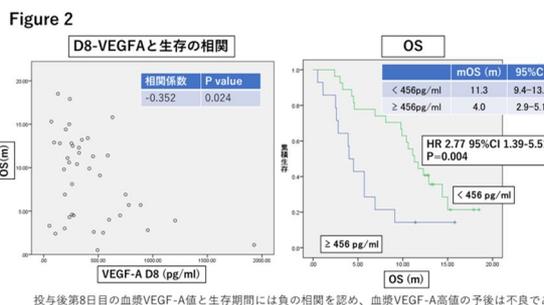
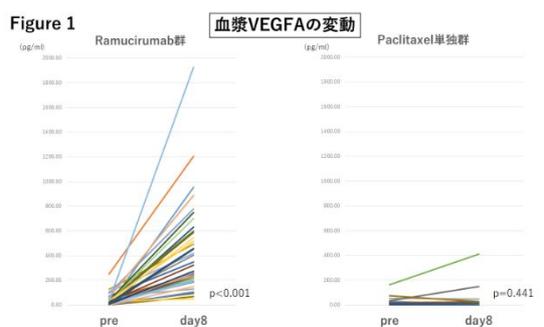
2. 研究の目的

本研究の目的は、ラムシルマブが投与される胃癌症例に対し候補遺伝子解析法を行い、投与後早期の血漿 VEGF-A 値と相関する遺伝子多型を明らかにすることで効果不良予測因子を同定する。血管新生阻害剤による ligand-receptor dual blockade 療法の治療効果をマウスモデルを用いて検証する事である。本研究の遂行により、治療前にラムシルマブの効果予測が可能となり、更に早期の耐性機序の解明とその克服を目指すことで、胃癌を含む血管新生阻害剤治療の新たな治療戦略の開発に貢献することである。

3. 研究の方法

1. 投与後早期の血漿 VEGF-A 値と相関する遺伝子多型の同定

本研究は当院倫理委員会承認を受け、一般臨床で ramucirumab 併用化学療法が予定されている胃癌症例から、同意を取得した後、以下の検体の採取および解析を行う。



投与後第8日目の血漿 VEGF-A 値と生存期間には負の相関を認め、血漿 VEGF-A 高値の予後は不良である

- (ア) 治療前および治療後第 8 日に血漿(採血量 7ml)を採取し、ELISA にて血漿 VEGF-A 等の値を測定する。
- (イ) 投与後早期の血漿 VEGF-A 値と予後との相関を検討する。
- (ウ) 治療経過中における全血の余剰検体を一部保存し、顆粒球より生殖細胞系列 DNA を抽出する。
- (エ) マイクロアレイを用いて VEGF-A および VEGFR2 など候補遺伝子解析を行う。
- (オ) 投与後早期の血漿 VEGF-A 値と相関する遺伝子多型を同定する。

2. 血管新生阻害剤による ligand-receptor dual blockade 療法の治療効果をマウスモデルを用いての検証

- (ア) 複数の胃癌細胞株の上清より VEGF-A 産生が高い胃癌細胞株を同定する
- (イ) ノードマウスにマウス抗 VEGF-R2 抗体 (DC101) を投与し、血中 VEGF-A 上昇の再現性をみる
- (ウ) ノードマウスに胃癌細胞株を接種し、それぞれ、生食、マウス抗 VEGF-A 抗体単剤、DC101 単剤およびマウス抗 VEGF-A 抗体/DC101 併用の腹腔内投与を行う
- (エ) 腫瘍径を測定し、抗腫瘍効果を評価する
- (オ) 採取した腫瘍検体を用い、遺伝子発現プロファイルを比較する

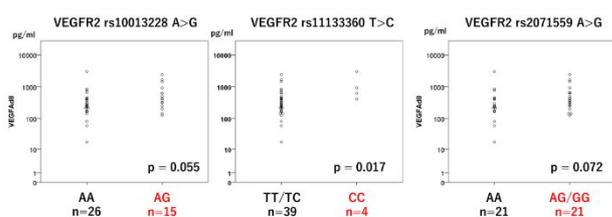
4. 研究成果

1. 投与後早期の血漿 VEGF-A 値と相関する遺伝子多型の同定

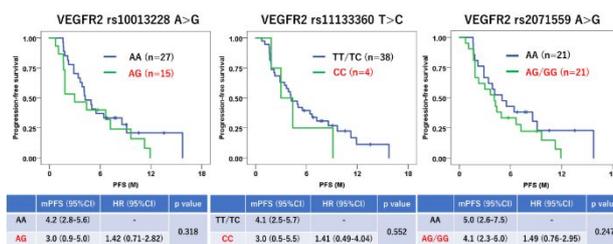
2021 年 7 月から 2024 年 1 月に 61 例より同意が得られた。2023 年 8 月までに解析結果が得られた 42 例の結果を報告する (日本胃癌学会総会 2024 年 2 月於京都にて発表)。

- 1) 42 例の患者背景および PFS、OS を以下に提示する。mPFS および mOS は、それぞれ 4.1 カ月、11.0 カ月であった。PFS および OS の予後因子。単変量解析において、PFS では転移臓器個数 2 個以上、OS では腹水ありが有意な予後不良因子であった。
- 2) ラムシルマブ投与前後の VEGF-A の比較と予後
投与後早期に血中 VEGF-A 中央値は、11.5 pg/ml (治療前) から 304.7 pg/ml (治療後早期) に著明に増加し、高値群の予後は有意に不良であり再現性が得られた。
- 3) 投与後早期 VEGF-A と相関する SNPs と生存
複数の VEGFR2 の SNPs が投与後早期 VEGF-A と相関する傾向が認められたが、いずれの SNP も予後との相関は得られなかった。

投与後早期 VEGF-A と SNPs



早期 VEGF-A 関連 SNPs と PFS



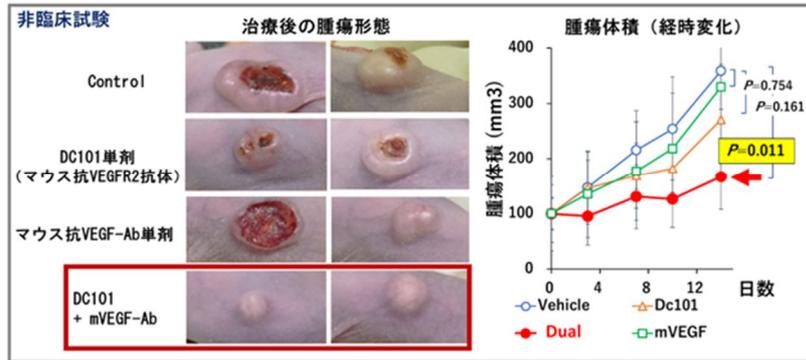
4) 血管新生関連 SNPs の探索的検討

血管新生に関連する遺伝子多型と生存を探索的に解析し、PFS、OS の予後因子でそれぞれ層別化を行ったところ、VEGF-R1、VEGF-R2 の遺伝子多型は有意に予後不良若しくは予後不良な傾向を認めた。

- 5) マウスにマウス抗 VEGFR2 抗体 (DC101) を投与した際の、VEGF-A 上昇の再現性の確認
マウスモデルを作成するにあたり、ヒト同様、DC101 投与後早期 VEGF-A 上昇の再現性を確認した。ノードマウスにヒト胃癌細胞 MKN-45 を接種後、DC101 を腹腔内投与した。DC101 投与後、マウスにおいても VEGF-A は DC101 の用量依存性に上昇し、再現性を確認した。非担癌マウスにおいても VEGF-A の上昇を認めた。さらに、上昇した VEGF-A は、ヒト胃癌細胞株由来ではなくマウス由来であったことから、VEGF-A の産生源は血管内皮細胞を含む宿主間質由来と想定された (Mashima, Wakatsuki, et al. Sci Rep 2021)。

- 6) 中和抗体を用いた、VEGF-A/VEGFR2 経路の 2 重阻害療法の有効性の評価
 ヒト胃癌細胞株を接種したマウスに、マウス抗 VEGF-A 抗体単剤、DC101 単剤及び、マウス抗 VEGF-A 抗体/DC101 併用療法の 3 群の腫瘍増殖抑制効果を比較した。その結果、併用療法群においてのみ有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた (Mashima, Wakatsuki, et al. Sci Rep 2021)。

VEGF-A/VEGFR2経路の二重阻害による腫瘍増殖抑制
 (ヒト胃癌細胞株ヌードマウス皮下腫瘍モデル)



非臨床 POC の取得 各抗体単剤療法と比較し、抗 VEGF-A 抗体および抗 VEGFR2 抗体を用いた VEGF-A/VEGFR2 経路の二重阻害療法は高い腫瘍増殖抑制効果を示した

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mashima Tetsuo, Wakatsuki Takeru, Kawata Naomi, Jang Myung-Kyu, Nagamori Akiko, Yoshida Haruka, Nakamura Kenichi, Migita Toshiro, Seimiya Hiroyuki, Yamaguchi Kensei	4. 巻 11
2. 論文標題 Neutralization of the induced VEGF-A potentiates the therapeutic effect of an anti-VEGFR2 antibody on gastric cancer in vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-94584-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 VEGF-A / VEGFR2経路のdual inhibition療法、及びこれに使用する医薬組成物	発明者 馬島哲夫、若槻尊	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2018-247198	取得年 2023年	国内・外国の別 国内

〔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
---------	---------