

平成 22 年 4 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007 ～ 2010

課題番号：19390397

研究課題名（和文）腫瘍性骨破壊における血管新生と破骨細胞分化・骨吸収の相互作用の解明

研究課題名（英文） Analysis of correlation of angiogenesis and osteoclastogenesis/osteoclastic bone resorption in tumore-induced destruction of bone

研究代表者

岩本 幸英 (IWAMOTO YUKIHIDE)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：00213322

研究代表者の専門分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：骨・軟部腫瘍学

1. 研究計画の概要

高齢化社会を迎え、死因の第一位である悪性腫瘍は増加の一途をたどっている。集学的治療法の進歩により悪性腫瘍患者の長期生存率 (quantity of life) は向上し、quality of life (QOL) という概念が重要視されるようになった。癌の骨転移、あるいは原発性骨腫瘍による骨破壊は、激しい疼痛と運動制限をもたらす患者の QOL を著しく低下させる。QOL を重視する現代医療において、腫瘍性骨破壊の病態解明と治療法の開発は社会的急務である。

腫瘍性骨破壊において、腫瘍細胞は破骨細胞 (Osteoclast: OC) の分化や骨吸収を直接的、間接的に促進する。OC による骨吸収により、腫瘍増殖に必要な物理的空間が供給されると同時に、骨に含まれる Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)、basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) など多様なサイトカインや成長因子が放出される。一方、骨破壊局所での血管新生は、腫瘍に酸素、栄養を供給すると共に、腫瘍細胞の播種の経路となり、腫瘍の増殖・浸潤を強力に促進する。しかし、これまで腫瘍性骨破壊における血管新生と破骨細胞分化・骨吸収の間の相互作用についての解析は十分になされていない。本研究では血管新生と破骨細胞の分化/骨吸収の相互作用を中心とした腫瘍性骨破壊における微小環境の解明を行い、新しい腫瘍性骨破壊治療法の開発に必要な、分子細胞生物学的基盤の構築を目指す。

2. 研究の進捗状況

現時点での進捗状況を以下の2点に大別して概説する。

(1) 腫瘍性骨破壊における Tumor Associated Macrophage (TAM) の役割についての検討。

腫瘍関連マクロファージ (TAM ; Tumor Associated Macrophage) は悪性腫瘍において、血管新生を含む腫瘍増殖に最適な癌微小環境を形成する。また TAM と破骨細胞前駆細胞 (OC precursor cell: OPC) や OC は近縁の細胞であり TAM は血管新生と破骨細胞分化・骨吸収と深く関与している可能性が高い。

Ewing 肉腫 (Ewing's sarcoma: ES) は著明な骨破壊を来し、骨に高率に転移する代表的な悪性骨腫瘍である。ヒト ES 細胞株を使用し、ヌードマウス皮下腫瘍を作成し、抗体磁気ビーズを用いて腫瘍より TAM を分離した。フローサイトメトリーでの分析の結果、高純度の CD11b 陽性の TAM が得られた。TAM の培養上清においては、IL-6、MCP-1 など様々なサイトカインが産生されていた。TAM の培養上清は、OPC (RAW264.7 細胞) の遊走を促進した。さらに、TAM が破骨細胞へ高率に分化することも確認した。ES 細胞株と TAM の共培養により、ES 細胞からの VEGF 産生が増加することも見いだした。ES において TAM は自身 OC へ分化し骨吸収を促進するとともに、腫瘍細胞と共同して血管新生を誘導し、腫瘍性骨破壊を促進する可能性が示唆された。

(2) bFGF の腫瘍性骨破壊における役割の検討

骨・骨髄内に含まれる増殖因子の、腫瘍性骨破壊に与える影響を検討した。その結果、骨髄内に存在する代表的な増殖因子の中で、bFGFが強くESの運動能を亢進させた。また、阻害剤を用いた実験によりbFGFの作用はFGFR1-PI3K-Rac1のシグナル伝達経路を介して伝えられていた。ヒト骨髄間質細胞の培養上清はESの運動能を亢進させ、その作用はbFGF中和抗体、FGFR1阻害剤で抑制された。この結果より、骨髄間質細胞から放出されるbFGFによりESの運動能が増強され、ESの骨転移・浸潤が促進されている可能性が示唆された。bFGFは血管新生を強く誘導すること、OCの骨吸収を促進することも明らかにされており、bFGFの情報伝達阻害は、腫瘍細胞の運動、血管新生、OCの骨吸収を同時に抑制することが可能であると考えられる。

3. 現在までの達成度 区分② 概ね順調に進展している (理由)

上述の2-(2)に関しては、既に論文投稿中であり、2-(1)についても、近日中に投稿予定である。

4. 今後の研究の推進方策

本年度までの解析により、腫瘍性骨破壊の微小環境において、細胞性因子としてはTAMが、また分子レベルではVEGFおよびbFGFが腫瘍性骨破壊を制御する重要な因子であることが明らかとなった。これまで予備実験により、ES細胞株を用いたreal timeに骨転移の追跡が可能なin vivo imaging systemを既に確立している。今後は同モデルを用いてin vivoでの腫瘍性骨破壊の阻害実験を行う。阻害方法としては、クロドロネートリポソームを用いてTAMの集積阻害を行う。また、VEGFとbFGFは細胞表面でチロシンキナーゼ型受容体と結合し細胞内に情報を伝達するが、VEGF、bFGF受容体の両者を同時に阻害可能な低分子化合物を用いた、腫瘍性骨破壊の抑制実験も同時に行う。TAMの集積阻害、VEGF、bFGFの作用の阻害は、腫瘍性骨破壊の悪循環のカスケードを複数のステップで阻止することにつながり、効率の良い治療法になりうる事が予想される。

5. 代表的な研究成果 (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 32 件)

- ① Li Y, Iwamoto Y, et al.:
Inhibition of the Transcriptional Function of p53 by EWS-Flil1 Chimeric Protein in Ewing Family Tumors. Cancer Letters, in press, 2010 査読有

- ② Oda Y, Iwamoto Y, et al.: Chemokine receptor CXCR4 expression is correlated with VEGF expression and poor survival in soft-tissue sarcoma. Int J Cancer, 124(8):1852-9, 2009 査読有

- ③ Matsunobu T, Iwamoto Y, et al.:
Critical roles of the TGF-beta type I receptor ALK5 in perichondrial formation and function, cartilage integrity, and osteoblast differentiation during growth plate development. Dev Biol, 332(2):325-38, 2009 査読有

- ④ Oda Y, Iwamoto Y, et al.: Different expression profiles of Y-box-binding protein-1 and multidrug resistance-associated proteins between alveolar and embryonal rhabdomyosarcoma. Cancer Sci, 99(4):726-32, 2008 査読有

- ⑤ Sakimura R, Iwamoto Y, et al.: The effects of histone deacetylase inhibitors on the induction of differentiation in chondrosarcoma cells. Clin Cancer Res 13(1):275-282, 2007 査読有

[学会発表] (計 40 件)

- ① Kamura S, Matsumoto Y, Fukushi J, Iwamoto Y, et al.: Basic Fibroblast Growth Factor Invasive and Metastatic Phenotype of Ewing's Sarcoma Cells by Stimulating the Cell Migration. (56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society March 6 - 9, 2010 New Orleans, Louisiana)
- ② Fujiwara T, Fukushi J, Matsumoto Y, Iwamoto Y, et al.: Ewing's Sarcoma Cells Induce Osteoclastic Differentiation of Tumor-Associated Macrophage. (56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society March 6 - 9, 2010 New Orleans, Louisiana)

- ③ 岩本幸英:
悪性骨・軟部腫瘍の転移
—研究の歴史と臨床応用への課題—
(第42回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 平成21年7月16日~17日 横浜)

[図書] (計 6 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

岩本幸英:
平成21年度日本整形外科学会学会賞 受賞