

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590862

研究課題名（和文）腫瘍血管新生を標的とした新規の抗腫瘍療法の確立

研究課題名（英文）Establishment of a novel anti-tumor therapy utilizing inhibition of angiogenesis

研究代表者

石田 達郎（ISHIDA TATSURO）

神戸大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：00379413

研究成果の概要：

生体内で血管内皮特異的接着分子（ESAM）の機能を阻害することによって腫瘍血管新生が阻害され、結果として腫瘍の成長が抑制されるかどうかを検討した。野生型および ESAM 欠損マウスに悪性黒色種細胞を静脈内播種したところ、ESAM 欠損マウスでは、有意に肺への腫瘍転移と腫瘍血管の発育が抑制されていた。培養内皮細胞における ESAM 発現は細胞の遊走能と管腔形成能と相関した。以上より、血管に富む腫瘍では ESAM を介する内皮の遊走と管腔形成によって腫瘍血管が増生し、その結果、腫瘍が血管依存的に増大することが示された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床系・血管病態学

キーワード：(1) 血管内皮 (2) 血管新生 (3) 末梢血管 (4) 循環器 (5) 接着分子

1. 研究開始当初の背景

腫瘍は血管新生を伴い、腫瘍の増大は腫瘍内の血管の成長に依存する。腫瘍血管新生には、血管内皮細胞間あるいは内皮細胞と細胞外マトリクスとの間の認識、物理的接着、相互作用が極めて重要な役割を果たしているが、これらの過程は血管内皮細胞表面の接着分子・受容体によって制御されている。近年我々は、新規の免疫グロブリン様接着分子をクローニングし、血管内皮特異的接着分子（endothelial cell-selective adhesion molecule; ESAM）と名付けた。ESAM は最も血

管内皮細胞に特異的に発現している接着分子である。ESAM は内皮-内皮間の接着と遊走および血管透過性を制御しており、血管新生や炎症の成因病態に深く関与している。ESAM は病的な血管新生に対する有用な分子標的のひとつであると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では ESAM を分子標的とした腫瘍血管新生の制御機構の解明と、ESAM 阻害によるヒト腫瘍抑制効果を検討することを目的と

する。

3. 研究の方法

(1) 腫瘍の ESAM 阻害の腫瘍血管新生と腫瘍成長に及ぼす影響の解析

ヒトの腫瘍（肝臓がん、肺がんなど）の組織における ESAM 発現を検討し、ESAM の発現が腫瘍の増大と相関関係を示すかどうかを検討する。すなわち、実際のヒト腫瘍において ESAM の発現量が血管新生や腫瘍増大と相関していることを示す。

(2) がん転移における ESAM の役割の解明

ESAM 欠損および野生型マウスに培養腫瘍細胞（B16F10 メラノーマ細胞）を尾静脈から注射する（血行性転移モデル）。内皮細胞における ESAM の欠損が透過性の亢進を介して腫瘍の血行性転移を促進するのか、腫瘍細胞と内皮細胞の直接作用（接着）の抑制を介して血行性転移が抑制されるのかを明らかにする。さらに、ESAM の発現量による血行性転移の変化の機序を培養細胞を用いて検討する。

(3) ESAM 阻害の腫瘍血管新生と腫瘍成長に及ぼす影響の解析

ESAM 細胞外ドメインの可溶性蛋白は血管内皮細胞膜上の ESAM と結合することにより ESAM の機能を阻害する。また、ESAM の細胞外ドメインに対する中和抗体は血管内皮細胞膜上の ESAM と結合することによりその機能を阻害する。これらの方法によって ESAM を阻害することにより腫瘍血管新生と腫瘍の成長が抑制されるかを検討する。マウスに B16F10 メラノーマ細胞を接種すると同時に ESAM の阻害を行い、1～2週間の観察期間をへて、ESAM の阻害を行った群と行わなかった群とで腫瘍血管新生と腫瘍成長に差異があるかを検討する。また、培養血管内皮細胞を用いて、ESAM の阻害によって細胞増殖、遊走、アポトーシスなどどのような影響がでるかを検討し、ESAM 阻害の分子機序を明らかにする。

4. 研究成果

(1) ヒトの腫瘍における ESAM 発現と腫瘍血管密度の関係

肝臓がん、肺がん、平滑筋肉腫、悪性黒色腫などの組織における ESAM 発現を検討したところ、ESAM の発現は正常組織と比べて腫瘍組織において増加していた。ESAM の発現量は内皮細胞のマーカーである VE-カドヘリン発現量と相関していることから、ESAM 発現量は腫瘍の血管密度を反映していることが明らかとなった。

(2) がん転移における ESAM の役割

ESAM 欠損および野生型マウスに培養腫瘍細胞（B16F10 メラノーマ細胞）を尾静脈から注射し、肺への血行性転移を評価したところ、ESAM 欠損では転移巣の大きさと数が減少していた。内皮細胞における ESAM を siRNA を用いて減少させたところ、内皮の遊走能と管腔形成が抑制されたことから、腫瘍内での ESAM を介する血管新生が抑制されたことにより血行性転移が抑制されたことが明らかとなった。

(3) ESAM 阻害の腫瘍血管新生と腫瘍成長に及ぼす影響の解析

ESAM 細胞外ドメインの可溶性蛋白によって ESAM を阻害することにより腫瘍血管新生と腫瘍の成長が抑制されるかを検討する。培養内皮細胞に ESAM 細胞外ドメインの可溶性蛋白を投与したところ、内皮の遊走と管腔形成が抑制された。しかし、マウスに B16F10 メラノーマ細胞を接種すると同時に ESAM 細胞外ドメインの可溶性蛋白による ESAM の阻害を行ったところ、ESAM の阻害を行った群で腫瘍血管新生と腫瘍成長には抑制される傾向がみられたものの有意差は認められなかった。生体内における ESAM 阻害の有効性と持続性を今後検討する予定である。

5. 主な発表論文等

(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7件)

1. Tanaka H, Ishida T, Johnston TP, Kojima Y, Yasuda T, Kundu RK, Quertermous T, Hirata K. Role of endothelial lipase in low HDL levels in a murine model of hypertriglyceridemia. J Atheroscler Thromb. In press. 査読あり
2. Sun L, Ishida T, Yasuda T, Kuriyama M, Kojima Y, Yamamoto Y, Yamamoto H, Ishibashi S, Hirata K, Hayashi K. RAGE mediates oxidized LDL-induced pro-inflammatory actions and atherosclerosis in non-diabetic LDL receptor-deficient mice. Cardiovasc Res. 2009 May 1;82(2):371-81. 査読あり
3. Hara T, Ishida T, Cangara HM, Hirata K. Endothelial cell-selective adhesion molecule regulates albuminuria in diabetic nephropathy. Microvasc Res. 2009 May;77(3):348-55. 査読あり
4. Otera H, Ishida T, Nishiuma T, Kobayashi K, Kotani K, Yasuda T, Kundu RK, Quertermous T, Hirata K, Nishimura Y. Targeted inactivation of endothelial lipase attenuates lung allergic inflammation through raising plasma HDL level and inhibiting eosinophil infiltration. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2009 Apr;296(4):L594-602. 査読あり
5. Ooi AG, Karsunky H, Majeti R, Butz S, Vestweber D, Ishida T, Quertermous T, Weissman IL, Forsberg EC. The Adhesion

Molecule ESAM1 is A Novel Hematopoietic Stem Cell Marker. Stem Cells. 2008 Dec 11. 査読あり

6. Nishihira K, Yamashita A, Tanaka N, Moriguchi-Goto S, Imamura T, Ishida T, Kawashima S, Yamamoto R, Kitamura K, Asada Y. Serotonin induces vasoconstriction of smooth muscle cell-rich neointima through 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor in rabbit femoral arteries. J Thromb Haemost, 2008;6:1207-1214. 査読あり
7. Yasuda T, Hirata K, Ishida T, Kojima Y, Tanaka H, Okada T, Quertermous T, Yokoyama M. Endothelial lipase is increased by inflammation and promotes LDL uptake in macrophages. J Atheroscler Thromb. 2007 14(4):192-201, 査読あり

[学会発表] (計6件)

1. Sun L, Ishida T, Kuriyama M, Yasuda T, Hara T, Hirata K, Hayashi Y. Targeted inactivation of receptor for advanced glycation products reduced oxidative LDL-induced inflammation and atherosclerosis in non-diabetic LDL receptor^{-/-} mice. American Heart Association Scientific Sessions 2008. 2008.11.11 New Orleans, LA
2. Inoue M, Ishida T, Hara T, Cangara H, Sun L, Hirata K. Role of endothelial cell-selective adhesion molecule in the progression of atherosclerosis. American Heart Association Scientific Sessions 2008. 2008.11.10 New Orleans, LA
3. 井上通彦、石田達郎、原哲也、平田健一 動脈硬化形成過程における endothelial

- cell-selective adhesion molecule (ESAM)の役割について. 第40回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2008. 7. 10 つくば
4. Cangara H, Ishida T, Kuriyama M, Hara T, Inoue M, Yasuda T, Hayashi Y, Hirata K. Role of endothelial cell-selective adhesion molecule (ESAM) in tumor angiogenesis and metastasis. 第72回日本循環器学会総会・学術集会 2008. 3. 28 福岡
5. Li S, Ishida T, Kuriyama M, Yasuda T, Hara T, Hayashi Y, Hirata K. RAGE Deficiency Inhibit the Atherosclerosis Progression in non diabetic Low-Density Lipoprotein Receptor Knockout Mice. 第72回日本循環器学会総会・学術集会 2008. 3. 28 福岡
6. Hara T, Ishida T, Yasuda T, Okada T, Fukuda A, Inoue M, Kureha F, Hirata K. High Glucose Stimulation Reduced Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule (ESAM) Expression : A Potential Role in Albuminuria in Diabetic Microangiopathy. 第72回日本循環器学会総会・学術集会 2008. 3. 28 福岡

[図書] (計4件)

1. 石田達郎、平田健一. 先端医学社. DATA UPDATE循環系 第4版. 「JELIS」 2009. Pp354-355.
2. 石田達郎、平田健一. 文光堂. 新・心臓病診療プラクティスシリーズ 12 冠動脈疾患の病態に迫る「高LDLコレステロール血症/低HDLコレステロール血症の関与」 2008. pp40-46.
3. 原哲也、石田達郎、平田健一. 先端医学社. β 遮断薬のすべて 第3版. 「 β

遮断薬の血管・血管内皮に対する作用」 2008. pp95-100.

4. 石田達郎、横山光宏. 南江堂. 循環器疾患最新の治療 2008-2009 「冠動脈疾患と抗血小板療法」 2008. pp99-102.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 達郎 (ISHIDA TATSURO)
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号 : 00379413

(2) 研究分担者

平田 健一 (HIRATA KEN-ICHI)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号 : 20283880

小谷義一 (KOTANI YOSHIKAZU)
神戸大学・医学部附属病院・講師
研究者番号 : 90403287

(3) 連携研究者

なし