

平成 21 年 5 月 7 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
研究期間：2007～2008  
課題番号：19591637  
研究課題名（和文） エンドスタチンの血管新生抑制効果増強のために：ZD6474 併用療法の確立  
研究課題名（英文） TO INCREASE ANTIANGIOGENIC EFFECT OF ENDOSTATIN : COMBINATION THERAPY WITH ZD6474

研究代表者  
矢野 智紀（YANO MOTOKI）  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：40315883

## 研究成果の概要：

ZD6474とエンドスタチンとの併用療法を行うためにZD6474の至適濃度を決定した。さらに肺腺癌細胞株にendostatin遺伝子導入し、形質導入を確認した。ZD6474とエンドスタチンとの併用療法を行うための基礎実験を施行した。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：エンドスタチン、ZD6474

## 1. 研究開始当初の背景

癌研究は近年の医学研究の中心であり、その発展はめざましく、肺癌領域においても多くの研究がなされてきた。肺癌は胃癌、乳癌等に比べ予後不良であり、近年癌による死因の第一位を維持している。肺癌の予後はその病変が局所に留まっているか否かで決定される。局所に限局されている場合には外科的切除によって治癒可能である。しかしながら病変が局所を越えた場合、有効とされる抗癌剤等を併用した集学的治療を行っても、その効果はあまり期待できない。近年 tumor dormancy therapy という概念が提唱されてきた。腫瘍の進行を停止または遅延させ、腫瘍死に至るまでの期間を延長させようという試みである。この tumor dormancy を導く一つの手段として血管新生の抑制が挙げられている。Folkman らは angiogenic switch の概念を提唱した。腫瘍の増大には血管新生因子と血管新生抑制因子とのバランスが重要で、初期の微小腫瘍結節が形成された後、血管新生因子の相対的な増加で血管が新生し、腫瘍が増大する。そのため血管新生抑制因子の重要性が示唆され、エンドスタチンやアン

ギオスタチンなどの有望な内因性血管新生抑制因子が発見された。しかしこれらの物質は本来の生体内タンパクのフラグメントであり、その構造は不安定で、リコンビナント蛋白の投与では有効な結果が得られていない。そのため形質導入を用いた実験系が試され、有効な結果が報告されてきた。

## 2. 研究の目的

我々もエンドスタチンをコードする遺伝子を作成し形質導入の実験系を確立し、その有効な腫瘍増殖抑制効果を証明してきた。このエンドスタチンを用いた臨床試験ではなかなか良好な報告がない。このことはエンドスタチンのもつ抗血管新生抑制効果の特徴によるところが大きいと考えられる。我々は現在までにエンドスタチンの特徴として以下のことを証明してきた。①エンドスタチンは優れた腫瘍増殖抑制効果を示す。②エンドスタチンは腫瘍形成初期の投与が最も効果的である。③エンドスタチンは腫瘍細胞の遊走能や浸潤能を抑制する。④肺癌患者の癌病

巢のエンドスタチン発現は血管内皮成長因子受容体 (VEGF) の発現と強い相関を示した。以上よりこのエンドスタチン発現が VEGF 等の血管新生促進因子の発現を誘導し抗腫瘍効果を減衰させていることが予想される。

今回我々は現在肺癌治療で用いられてきた上皮成長因子受容体 (EGFR) と VEGF 受容体 (VEGFR) をともに阻害する ZD6474 を用いて tumor dormancy を求めることを目標とした。

### 3. 研究の方法

ZD6474とエンドスタチンとの併用療法を行うためにZD6474の至適濃度決定を試みた。ヒト肺癌細胞株4種類でその至適濃度を解析した。使用した肺腺癌細胞株NCI-1975、A549、PC9、PC14で、現在肺癌の多くが腺癌であることからこれらの細胞が選択された。

最終的に至適濃度を5  $\mu$  Mに決定した。この濃度を保つためにZD6474をマウスに連日投与する容量を150nmol/bodyと決定した。さらに上述肺腺癌細胞株NCI-1975、A549、PC9、PC14にendostatin

遺伝子導入をGL67/DOPEを用いて形質導入を行う予定であったが、入手が困難になったために形質導入方法を変更し、FuGENE\*6 (Roche) を使用した。形質導入は形質導入した腫瘍細胞株全てで、RT-PCR法を用いて確認できた。

これらNCI-1975、A549、PC9、PC14細胞から転移性肺腫瘍モデルを作製した。

転移性肺腫瘍モデルはヌードマウスに上記腫瘍細胞を $5 \times 10^5$ 個尾静脈から投与することで作成される。このモデルは通常腫瘍モデルは投与後7日前後で多数の微小結節が可視できるようになり、21日頃より腫瘍死するようになった。

この転移性肺腫瘍モデルを用いて、今後ZD6474投与とエンドスタチン遺伝子形質導入をヌードマウスを用いてin vivoで行い、その腫瘍増殖抑制効果を評価する。

### 4. 研究成果

残念ながら研究期間内には上記過程までは終了したが最終結果には至っていない。今後さらに研究を追加し最終結果が出るま

で継続する。

## 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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

矢野 智紀 (YANO MOTOKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：40315883

### (2) 研究分担者

横山 智輝 (YOKOYAMA TOMOKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：40448717

### (3) 連携研究者