

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17785

研究課題名（和文）血管肉腫に対する抗VEGF抗体/抗IL-17抗体併用による腫瘍増殖抑制効果の検討

研究課題名（英文）The efficacy of VEGFR inhibitor and anti-IL-17 antibody for angiosarcoma

研究代表者

増澤 真実子（MASUZAWA, MAMIKO）

北里大学・医学部・講師

研究者番号：20365084

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,500,000円

研究成果の概要（和文）：パゾパニブは血管肉腫の保険適用薬だがin vitro/vivoでの治療効果について検討された研究はほとんどない。我々はヒトおよびマウス血管肉腫マウスモデルを樹立し、いずれもパゾパニブ投与群では陰性コントロール群と比較し腫瘍細胞の増殖抑制を証明した。またヒト血管肉腫細胞株ISO-HAS、ヒトリンパ管肉腫細胞株Mo-LASを用いたパゾパニブ添加による細胞生存率は濃度依存性に低下し腫瘍増殖抑制効果を認めた。パゾパニブの治療抵抗性については腫瘍微小環境中のIL-17の関与を検証したがマウス血管肉腫モデルでパゾパニブ単独投与群とパゾパニブ+抗IL-17抗体併用投与群に腫瘍増殖抑制効果の差は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

血管肉腫は悪性南部腫瘍としてパゾパニブが保険適用となったが、実際血管肉腫に対するパゾパニブの治療効果を証明する基礎研究はほとんどなく、その治療効果は不定であった。今回我々は、血管肉腫マウスモデルおよび、血管肉腫細胞株を用いて血管肉腫に対するパゾパニブの効果を証明し得た。実際の臨床課題としては、パゾパニブで得られる無増悪生存率は3-4ヶ月程度で治療耐性となっていることが予想される。耐性の出現を抑制する併用治療の開発が今後の課題であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Pazopanib is a second-line drug for angiosarcoma, but few studies have examined its therapeutic effect in vitro or in vivo. We established mouse models of human angiosarcoma and mouse angiosarcoma, both of which demonstrated suppression of tumor cell growth in the pazopanib-treated group compared to the negative control group. In addition, the cell viability by adding pazopanib using the human angiosarcoma cell line; ISO-HAS, and the human lymphangiosarcoma cell line; Mo-LAS decreased in a concentration-dependent manner, and a tumor growth inhibitory effect was observed. Regarding the treatment resistance of pazopanib, which is a clinical problem, the involvement of IL-17 in the tumor microenvironment was examined. In the mouse angiosarcoma model, no tumor growth inhibitory effect was observed compared to the pazopanib monotherapy group and the pazopanib + anti-IL-17 antibody combination administration group.

研究分野：血管肉腫

キーワード：血管肉腫 ISO-HAS パゾパニブ

## 1. 研究開始当初の背景

血管肉腫は稀な血管内皮細胞由来の悪性軟部腫瘍であり、進行の速さ、高い局所再発率と遠隔転移率、またその薬剤耐性から有効な治療法が少ないため、極めて予後不良である。近年、タキサン系抗がん剤につぐ第二選択の治療として血管内皮細胞増殖因子受容体阻害薬 (VEGFR) である Pazopanib が保険適用となっているが、血管肉腫単独での臨床試験は実施されていないためその効果は不明である。また、血管肉腫細胞株を用いた腫瘍抑制効果の検証で Hoshina らが樹立したヒト血管肉腫細胞株 HAMON を移植した血管肉腫マウスモデルでは VEGFR 阻害薬である Sunitinib による腫瘍抑制効果は認められなかった (Hoshina, D, et al. J Dermatol Sci 70: 116-122, 2013)。

実際の血管肉腫患者治療においては単剤での効果は認める症例もあるが、悪性軟部腫瘍の第3相試験 (Graaf et al. Lancet. 379:1879-1886, 2012) の結果と同様に無増悪期間が3~4ヶ月と効果が限定的であり薬剤耐性の獲得が推測される。がん組織中あるいはがん周辺の環境(がん微小環境)においては、Th17 細胞が産生する可溶性因子インターロイキン-17 (IL-17)が抗 VEGF 抗体療法効果を抑制することが知られており (Chung et al. Nature Medicine 19:1114-1123, 2013) また、腫瘍によって局所的に分泌された IL-17 が血管新生を促進し、それによってマウスモデルの腫瘍増殖を促進することを示されており (M. Numasaki et al. Blood, 101: 2620-2627, 2003) VEGF-VEGFR をターゲットとした治療の耐性機序に IL-17 が関与していると考えられている。

## 2. 研究の目的

本研究では、我々が樹立したヒト血管肉腫細胞株 (ISO-HAS) とマウス及びヒト血管肉腫マウスモデル (Masuzawa et al. J. Dermatol. Sci. 16:91-98, 1998) を用いて、in vitro および in vivo において血管肉腫に対する VEGFR 阻害薬、Pazopanib の抗腫瘍効果を検証する。

また、ヒト血管肉腫マウスモデルを用いて Pazopanib に抗 IL-17 抗体を併用し Pazopanib 単独投与群との治療効果の比較検討し、Pazopanib の効果増強または耐性獲得を抑制する併用薬としての可能性について探索する。

## 3. 研究の方法

・ヒト血管肉腫細胞株 (ISO-HAS) を用いた in vitro における腫瘍増殖抑制試験

ヒト血管肉腫細胞株 ISO-HAS とヒトリンパ管肉腫細胞株 MO-LAS を in vitro で培養し、Pazopanib 投与による細胞増殖抑制効果を陰性コントロールと比較し cell viability について検討した。

・マウス血管肉腫マウスモデル ISOS-1 を用いた Pazopanib による腫瘍増殖抑制試験

マウス血管肉腫細胞株 ISO-S1 を BALB/C マウスの皮下に接種した。接種 11 日目から Pazopanib 投与群、陰性コントロール群に分け、Pazopanib 100mg/kg を 21 日間連日経口投与し、腫瘍体積を測定しその抑制効果について比較検討した。

・ヒト血管肉腫マウスモデルを用いた Pazopanib による腫瘍増殖抑制試験

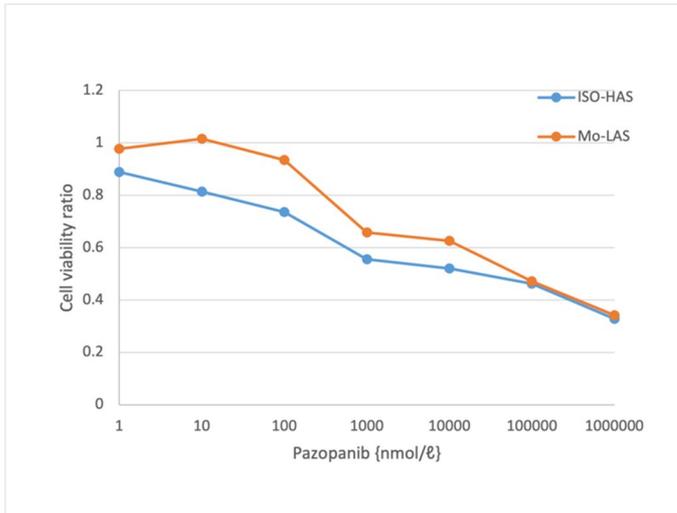
ヒト血管肉腫細胞株 WB-SCID を NOD-SCID マウスの皮下に接種した。接種 11 日目腫瘍容積が 100mm<sup>3</sup> に達した時点から Pazopanib 投与群、陰性コントロール投与群に分け、Pazopanib 100mg を 21 日間連日経口投与し、腫瘍体積を測定しその抑制効果について比較検討した。

・マウス血管肉腫マウスモデル ISOS-1 を用いたマウス抗 VEGF-A 抗体併用による Pazopanib の腫瘍増殖抑制試験

マウス血管肉腫細胞株 ISO-S1 を BALB/C マウスの皮下に接種した。接種 11 日目から Pazopanib 単独投与群、Pazopanib+マウス抗 VEGF-A 抗体併用群、陰性コントロール群に分け、Pazopanib 100mg/kg は 21 日間連日経口投与し、マウス抗 VEGF-A 抗体は週に 2 回腹腔内投与とし、各群の腫瘍体積を測定しその抑制効果について比較検討した。

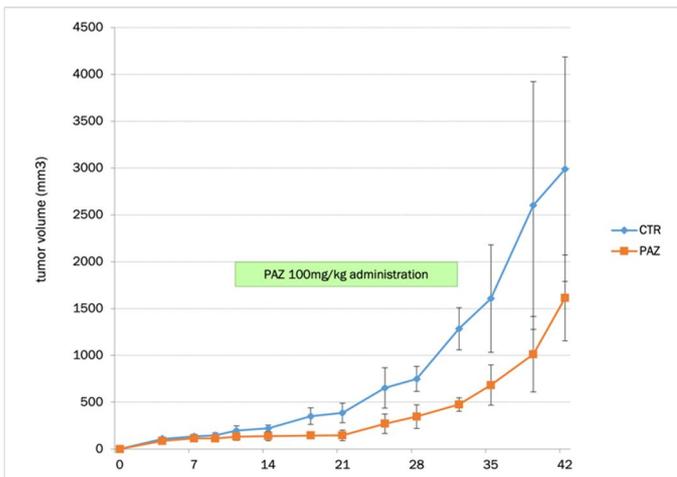
#### 4. 研究成果

##### ・ヒト血管肉腫細胞株 (ISO-HAS) を用いた *in vitro* における腫瘍増殖抑制試験



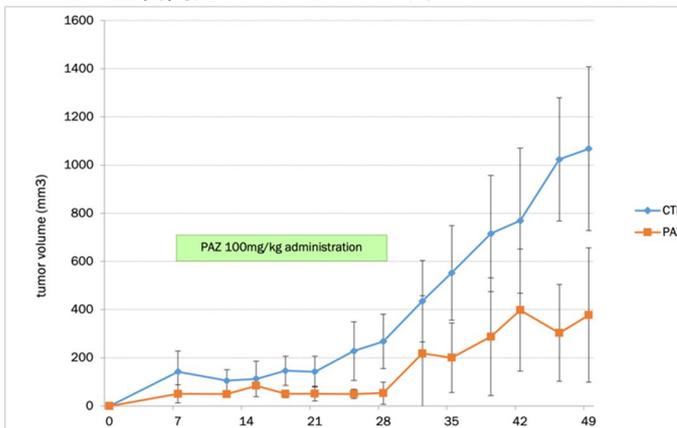
ヒト血管肉腫細胞株 ISO-HAS および、ヒトリンパ管肉腫細胞株 Mo-LAS を用いたパゾパニブ添加による細胞生存率は濃度依存性に低下がみられ、10 $\mu$ M でいずれも細胞生存率は約 50%であり、パゾパニブによる腫瘍増殖抑制効果が認められた。

##### ・マウス血管肉腫マウスモデル ISOS-1 を用いた *in vivo* における腫瘍増殖抑制試験



Pazopanib 投与開始 10 日後から投与終了 4 日後まで有意に Pazopanib 投与群で腫瘍抑制効果がみられた。

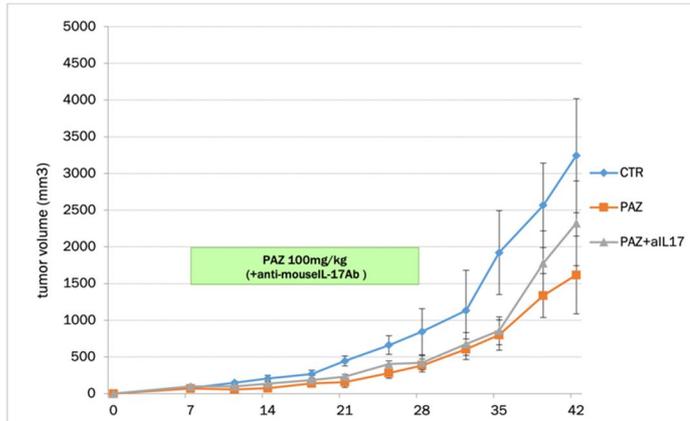
##### ・ヒト血管肉腫マウスモデルを用いた *in vivo* における腫瘍増殖抑制試験



Pazopanib 投与群では経口投与中は腫瘍増殖が抑制され、投与終了後より腫瘍が増殖傾向となった。コントロール群と比較して腫瘍増殖は抑制される傾向にあった。

マウス血管肉腫マウスモデル ISOS-1 を用いたマウス抗 VEGF-A 抗体併用による

### Pazopanib の腫瘍増殖抑制試験



Pazopanib 投与群と併用群では腫瘍容積に有意差がなく、いずれもコントロール群より腫瘍増殖は抑制されたが、抗 IL-17A 抗体による Pazopanib の効果増強は認められなかった。

以上の結果から、血管肉腫細胞株および血管肉腫マウスモデルに対して Pazopanib による単独の腫瘍増殖抑制効果があることが証明された。しかし、抗 IL-17 抗体併用による抗腫瘍効果の増強は見られなかった。本研究を通して VEGFR 阻害薬である Pazopanib は血管肉腫の第 2 選択薬として有効性が期待できることが明らかとなったが、実際には症例によって治療効果の差が大きいため、遺伝子変異の有無などの個体ごとのプロファイルが併用治療候補の探索に加えて必要と考えられた。

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