

平成 22 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790682

研究課題名 (和文) 慢性骨髄性白血病における VEGFR1 の機能の解明

研究課題名 (英文) Analysis of functions of VEGFR1 in chronic myelogenous leukemia

研究代表者

櫻井 佳子 (SAKURAI YOSHIKO)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：10361619

研究成果の概要 (和文)：VEGFR1 の細胞内チロシンキナーゼ活性を持たないマウスでも、BCR/ABL による慢性骨髄性白血病様症状が引き起こされることが明らかになった。しかし、これらの症状の発症の時期にはマウスの個体により大きなばらつきが見られ、VEGFR1 の細胞内チロシンキナーゼ活性の有無が慢性骨髄性白血病の発症時期に影響を及ぼすかどうかを明らかにするためには、さらに解析を行う必要があると考えられる。

研究成果の概要 (英文)：BCR/ABL-induced chronic myelogenous leukemia was observed in mice lacking VEGFR1 cytoplasmic tyrosine kinase activity. However, the time occurring chronic myelogenous leukemia were largely varied in each mouse. Then, more detail study is needed for elucidation of relationship between VEGFR1 cytoplasmic tyrosine kinase activity and chronic myelogenous leukemia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：がん

1. 研究開始当初の背景

慢性骨髄性白血病の患者では、ほぼ全例で

染色体相互転座により BCR 遺伝子とチロシンキナーゼをコードする c-ABL 遺伝子が融

合した BCR/ABL 遺伝子の発現が見られる。BCR/ABL タンパク質は正常の c-ABL に比べて高いチロシンキナーゼ活性を持ち、この異常なチロシンキナーゼ活性の亢進が骨髄の造血幹細胞を癌化させることにより慢性骨髄性白血病を引き起こすと考えられている。

近年、慢性骨髄性白血病において VEGF の高発現が骨髄および末梢血で見られることや、BCR/ABL が VEGF の発現を誘導することが報告され (Blood, 104, 495-501, 2004、Blood, 100, 3767-3775, 2002)、慢性骨髄性白血病と VEGF の関連性について注目が集まっていた。しかし、その詳細はほとんど明らかになっていなかった。

VEGF はチロシンキナーゼ型レセプターである VEGFR1、VEGFR2 に結合し細胞の増殖や遊走を誘導する。最近、VEGFR1 が骨髄の造血幹細胞に発現しており、VEGF やもう 1 つの VEGFR1 のリガンドである PlGF によって VEGFR1 ポジティブ造血幹細胞が骨髄から動員されることが報告された (Nature Med., 8 (8), 841-849, 2002、Nature Med., 12 (5), 557-567, 2006)。骨髄の造血幹細胞では VEGFR2 よりも VEGFR1 が機能していることを示すこれらの報告から、BCR/ABL による骨髄の造血幹細胞の癌化および慢性骨髄性白血病の進行において VEGFR1 が関与している可能性が示唆されたことから、慢性骨髄性白血病における VEGFR1 の役割を明らかにすることを着想するに至った。

2. 研究の目的

申請者の所属する研究室では、VEGFR1 のチロシンキナーゼドメインのみを欠失した VEGFR1 TK ノックアウトマウスを用いて VEGFR1 が癌の肺転移に関与する事を明らかにしている (Nat. Cell Biol., 8, 1369-1375, 2006)。そこで、この VEGFR1 TK ノックアウトマウスと、造血前駆細胞で高い発現が認められる tec 遺伝子のプロモーターのもとで BCR/ABL を発現させた慢性骨髄性白血病モデルマウス (p210 BCR/ABL トランスジェニックマウス) (Blood, 91, 2067-2075, 1998) の掛け合わせを行って慢性骨髄性白血病の発症と病態の解析を行い、慢性骨髄性白血病における VEGFR1 の関与およびその分子機構を明らかにし、得られた

成果を慢性骨髄性白血病治療へ応用することを目指した。

3. 研究の方法

p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスは、造血前駆細胞で高い発現が認められる tec 遺伝子のプロモーターのもとで BCR/ABL を発現させており、生後約 6 ヶ月から末梢白血球数の増加とそれに伴う顆粒球系細胞の増加、ヘモグロビン濃度の低下、血小板の増加が認められ、また骨髄は顆粒球系細胞の過形成を呈し、脾臓にも成熟顆粒球の増殖が見られるなど慢性骨髄性白血病様症状を呈することが報告されている (Blood, 91, 2067-2075, 1998)。

一方 VEGFR1 のチロシンキナーゼドメインのみを欠失した VEGFR1 TK ノックアウトマウスは、生理的な血管形成や造血には異常がないが、マクロファージの VEGF 依存的な遊走能が低下しており、癌転移や慢性関節リウマチなどの病的状態において VEGFR1 のチロシンキナーゼ活性が重要であることをこれまでにこのマウスで示したことから (Cancer Cell, 2, 289-300, 2002、Blood, 108, 1849-1856, 2006、Nat. Cell Biol., 8, 1369-1375, 2006)、様々な病的状態における VEGFR1 の機能を解析する上で非常に優れたモデルマウスである。

そこで、p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスと VEGFR1 TK ノックアウトマウスの掛け合わせを行い、p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスを作製した。そして、慢性骨髄性白血病の発症時期および病態について、次の方法で解析を行った。

(1) p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスと p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスのそれぞれから経時的に採血を行い、血球計数装置を用いて白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、血小板数の測定を行った。

(2) p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスと p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスのそれぞれから経時的に採血を行い、ギムザ染色を行って顕微鏡観察し、白血球におけるリンパ球、顆粒球の割合を調べた。

4. 研究成果

慢性骨髄性白血病モデルマウスである p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスと、VEGF レセプターの1つである VEGFR1 の細胞内チロシンキナーゼドメインを欠失した VEGFR1 TK ノックアウトマウスを掛け合わせ、p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスを作製した。そして、p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスと p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスについて、慢性骨髄性白血病様症状として報告されている表現型について解析を行い、下記のような結果を得た。

(1) p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスと、p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスのそれぞれから経時的に末梢血の採血を行い、血球計数装置を用いて白血球数、赤血球数、ヘモグロビン濃度、血小板数の測定を行った。その結果、p210 BCR/ABL トランスジェニックマウス、p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスいずれのマウスにおいても、生後約6ヶ月過ぎから末梢血における白血球数の増加、赤血球数の減少、ヘモグロビン濃度の減少、血小板数の増加という、p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスにおいて慢性骨髄性白血病様症状として報告されている表現型が観察された。

(2) p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスと、p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスのそれぞれから経時的に末梢血の採血を行い、ギムザ染色を行って顕微鏡観察し、白血球におけるリンパ球、顆粒球の割合を調べた。その結果、正常マウスでは常にリンパ球の割合が顆粒球よりも高いのに対して、p210 BCR/ABL トランスジェニックマウス、p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスいずれのマウスにおいても、生後約6ヶ月過ぎから末梢血における白血球分画の顆粒球の割合がリンパ球に対して徐々に増加し、顆粒球系細胞の増加という慢性骨髄性白血病様症状として報告されている表現型が見られた。

以上の結果から、VEGFR1 の細胞内チロシンキナーゼ活性を持たない p210 BCR/ABL トランスジェニック/VEGFR1 TK ノックアウトマウスでも、BCR/ABL による慢性骨髄

性白血病様症状が引き起こされることが明らかになった。しかし、これらの症状の発症の時期にはマウスの個体により大きなばらつきが見られ、VEGFR1 の細胞内チロシンキナーゼ活性の有無が慢性骨髄性白血病様症状の発症時期に影響を及ぼすかどうかを明らかにするためには、さらに個体数を増やして解析を行う必要があると考えられる。慢性骨髄性白血病において VEGF の高発現が見られ、BCR/ABL が VEGF の発現を誘導するという報告から、VEGF は慢性骨髄性白血病の病態を悪化させる可能性が示唆されている。VEGFR1 TK ノックアウトマウスと掛け合わせた p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスでは慢性骨髄性白血病の発症時期の遅れ、または病態の改善が見られることが当初予想されたことから、慢性骨髄性白血病の発症時期や病態についてのさらに詳細な解析が望まれる。

また申請者の所属する研究室では、VEGFR1 の細胞内チロシンキナーゼドメインのみではなく、膜貫通ドメインまで欠失した VEGFR1 TM-TK ノックアウトマウスも所有しており、この VEGFR1 TM-TK ノックアウトマウスと p210 BCR/ABL トランスジェニックマウスの掛け合わせを行い、これらのマウスの表現型を解析することにより、VEGFR1 の慢性骨髄性白血病における関与についてさらに詳細に解明することができると期待される。

現在 VEGF の機能を阻害する中和抗体がすでに臨床で使われ始めており、また VEGF および VEGF レセプターの機能を阻害する抗体や化合物の開発が世界中で行われていることから、VEGF や VEGFR1 の慢性骨髄性白血病における関与が解明できれば慢性骨髄性白血病の治療開発に大きく貢献できると考えられる。

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1件)

櫻井佳子、Involvement of TLR4 in lung metastasis、第67回日本癌学会学術総会、

平成20年10月29日、名古屋国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

櫻井 佳子 (SAKURAI YOSHIKO)
東京女子医科大学・医学部・助教
研究者番号：10361619