

機関番号：11401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790765

研究課題名（和文）非小細胞肺癌の進展における血管新生と血管内皮前駆細胞の関与

研究課題名（英文）Endothelial Progenitor Cell Is Associated With Tumor Size In Human Non-Small Cell Lung Cancer

研究代表者

佐藤 一洋（SATO KAZUHIRO）

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：30436191

研究成果の概要（和文）：

骨髄由来の血管内皮前駆細胞(EPC)は腫瘍の増殖と腫瘍血管新生において重要な役割を担っている。しかし、非小細胞肺癌においては EPC が血管新生や臨床経過にどのように関与しているかは明らかにされていない。そのため、本研究では末梢血中の EPC 数と非小細胞肺癌患者の臨床経過、治療経過などとの関連を明らかにすることとした。

方法としては、CD34、CD133、EGFR2 陽性細胞を EPC と定義し、フローサイトメトリーでカウントした。EPC は非小細胞肺癌患者および健常者から採取し比較した。また、非小細胞肺癌患者において EPC 数が、腫瘍のサイズや転移と関連があるか、また腫瘍の治療効果と関連があるかを検討した。

その結果、EPC 数は健状者に比べ、明らかに肺癌患者で増加していることが確認された。しかし、患者の年齢、性別をはじめ、腫瘍のサイズや臨床ステージなどとの関連はなかった。ただ、EPC が高値になるにしたがい、抗癌剤に対する反応が乏しく、また無増悪生存期間が長いことが示された。

このことから、非小細胞肺癌患者の EPC は過剰な血管新生を介して、治療抵抗性に関与している可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

Rationale: Bone marrow-derived endothelial progenitor cells (EPCs) play an important role in angiogenesis and tumor growth. However, the clinical relevance of EPCs in blood vessel formation in non-small cell lung cancer (NSCLC) remains unclear. We assessed the hypothesis that EPC numbers are increased in NSCLC patients and correlate with clinicopathological factors.

Methods: EPCs labeled with CD34, CD133, and vascular endothelial growth factor receptor-2 antibodies were counted by flow cytometry in the peripheral blood of 30 NSCLC patients. We examined age, pathological stage, histological type, Fluoro-D-glucose Positron emission tomography (FDG-PET), response to therapy, and tumor size of NSCLC patients, and investigated whether these factors correlate with EPC counts.

Results: Circulating EPC numbers before antitumor therapy were increased in NSCLC patients compared with healthy controls ($p < 0.05$). Furthermore, in the subgroup of responders to treatment, EPC numbers were significantly lower than in non-responder patients receiving antitumor therapy ($p < 0.05$). However, no significant associations with age, gender, histological type, pathological stage, or FDG-PET were detected.

Conclusions: Peripheral blood levels of bone marrow-derived EPCs are significantly increased in patients with NSCLC, and correlate with response to antitumor therapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：血管内皮前駆細胞、非小細胞肺癌、腫瘍血管新生、抗腫瘍効果

1. 研究開始当初の背景

以前から非小細胞肺癌の増殖や転移において腫瘍血管が重要なことは知られている。骨髄由来の血管内皮前駆細胞 (**endothelial progenitor cell : EPC**) は IL8 や VEGF-A の作用をうけて腫瘍血管へと分化する細胞である。

近年 EPC は腫瘍血管新生マーカーとして、腫瘍増殖との関連を示唆する報告が認められている。また腫瘍血管新生に伴う腫瘍の増殖や転移性病変の進行などは、肺癌患者の予後に影響を及ぼすと考えられていることから、EPC が肺癌患者の予後に関与している可能性が考えられる。さらに、腫瘍血管が過剰な状態では腫瘍組織への抗癌剤の到達が劣っている可能性も考えられ、EPC は抗癌剤の抗腫瘍効果にも関与している可能性が考えられる。

2. 研究の目的

肺癌では EPC が増加することで、血管新生が亢進しており、それが癌の進展や生命予後に関与するという仮説、また抗癌剤の組織への到達を調節し治療効果などに影響を及ぼしているという仮説を考え、証明する。

3. 研究の方法

第一に対象を未治療の非小細胞肺癌患者、対象群として非肺癌患者を設定し、非小細胞肺癌患者での EPC など血管新生マーカーが更新しているかどうかを検討した。脳梗塞や心筋梗塞などの虚血性疾患、コントロール不良の糖尿病、潰瘍性病変、腎不全、外傷を有している患者が除外された。

非小細胞肺癌患者および非肺癌患者での治療前の末梢血での EPC を測定して比較検討した。

患者の末梢血より単核球を分離、フローサイトメトリーを用いて CD34+VEGFR2+ の細胞を EPC として測定を行った。同時に ELISA 法を用いて同様に血管新生に関与していると考えられてい

る血清中の VEGF-A、IL-8 の測定を行った。第二に肺癌患者で EPC が腫瘍の進展に関与していることの検討として、対象を非小細胞肺癌患者に限定して検討した。

患者の治療前 EPC と腫瘍の病理組織型、腫瘍サイズ、病期、など臨床データとの関連について検討を行った。

第三に抗癌剤に対する反応性と EPC との関連をみるため、EPC と腫瘍縮小率、無増悪生存期間 (PFS) との関連をみた。

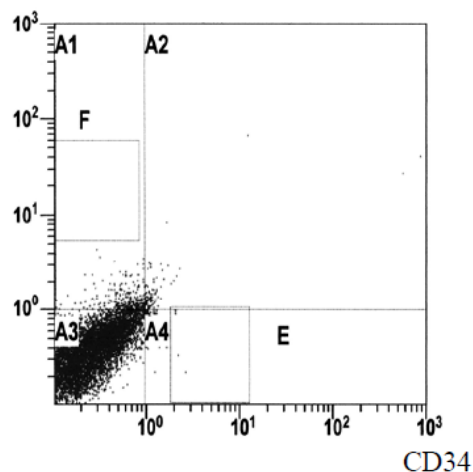
以上から治療前患者の末梢血中 EPC が非小細胞肺癌の経過にどのように関与しているかを検討した。

4. 研究成果

VEGFR2+CD34+ の EPC をフローサイトメトリーを用いて図 1 のように測定した。

図 1

VEGFR2



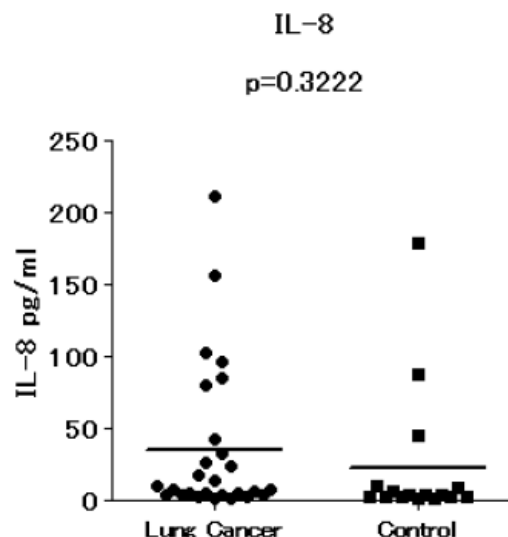
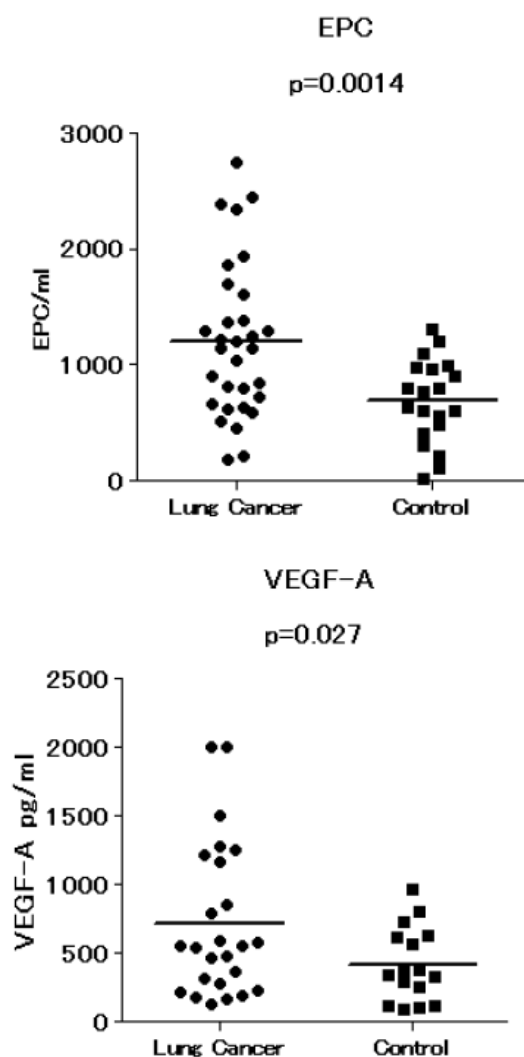
第一の検討として、肺癌患者と非肺癌患者での EPC、VEGF-A、IL-8 などを比較検討した。

表 1

	All Patients		
	Control (%) (n=20)	NSCLC (%) (n=31)	p value
Age	66.5±14.3	66.5±12.5	NS
Gender			
male	10 (50.0)	22 (73.3)	0.0434
female	10 (50.0)	9 (26.7)	
Smoking History			
Non-smoker	8 (44.4)	7 (22.5)	NS
Smoker	12 (55.6)	24 (77.4)	
Histologic Type			
Squamous cell carcinoma		9 (26.7)	
Adenocarcinoma		22 (73.3)	
Pathologic Stage			
I		6 (19.4)	
II		2 (6.45)	
III		8 (25.8)	
IV		15 (48.4)	
Other Disease			
Asthma	4 (20.0)	6 (19.4)	NS
COPD	3 (15.0)	9 (26.7)	NS
Hypertension	12 (60.0)	15 (48.1)	NS

表 1 に示すとおり、患者背景では非小細胞肺癌患者でやや男性が多い以外は非肺癌患者との違いはなかった。

図 2



非小細胞肺癌患者、非肺癌患者での EPC の比較を図 2 に示す。非小細胞肺癌患者で有意な増加を認めた

同様に血清中の VEGF-A も非小細胞肺癌患者で有意な増加を認めた。しかし、EPC と VEGF-A との間に相関は認めなかった。血清中 IL-8 は両群で有意な差異を認めなかった。

次に、対象を非小細胞肺癌患者のみとし、この群を EPC 値により 2 群に分けて腫瘍の進展度を比較した。EPC のカットオフ値は 1000/ μ l とした。

表 2

	NSCLC		
	EPC high (%) (n=16)	EPC low (%) (n=15)	p value
Age	70.2±5.40	63.7±15.4	0.1418
Gender			
male	11 (68.8)	10 (66.7)	0.9053
female	5 (31.2)	5 (33.3)	
Smoking History			
Non-smoker	2 (12.5)	4 (26.7)	0.3348
Smoker	14 (87.5)	11 (73.3)	
Histologic Type			
Squamous cell	4 (25.0)	5 (33.3)	0.6235
Adenocarcinoma	12 (75.0)	10 (66.7)	
Pathologic Stage			
I	4 (25.0)	2 (13.3)	0.2871
II	1 (6.25)	1 (6.67)	
III	5 (31.3)	3 (20.0)	
IV	6 (37.5)	9 (60.0)	
Therapy			
Chemotherapy	7 (43.7)	8 (53.3)	0.5021
Chemoradiotherapy	4 (25.0)	4 (26.7)	
Surgery	5 (31.3)	3 (20.0)	

表 2 に示すとおり、腫瘍組織型や臨床病期など腫瘍進展度と EPC の関連は否定的であった。

第三に抗癌剤で治療後、腫瘍の縮小率と EPC との関連を評価した。

図 3 に示すように、EPC の高い群と低い群で化学療法の効果を比較したところ、EPC が高い群で有意に縮小率が低かった。

図 3

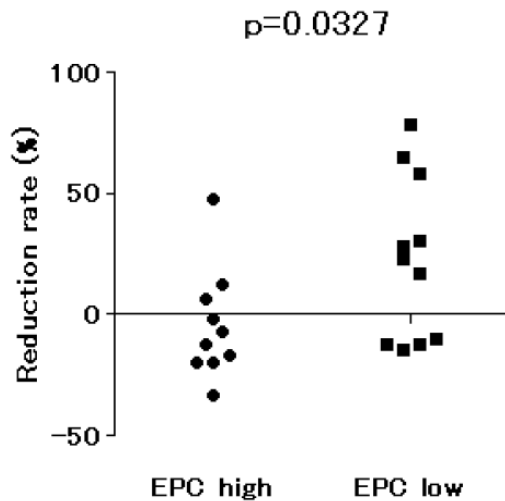
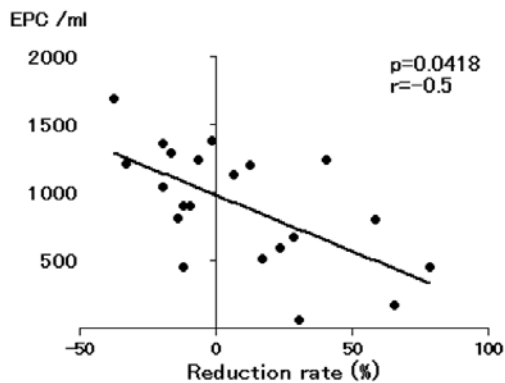


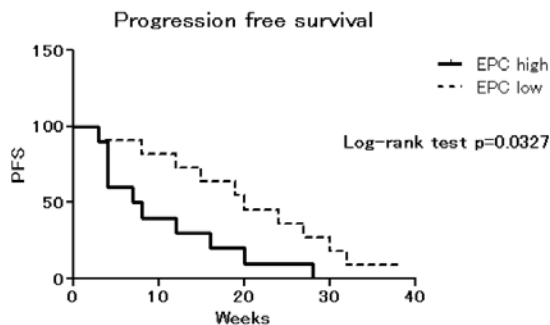
図 4



また、図 4 に示すとおり、腫瘍縮小率と末梢血中 EPC 値の間には有意な負の相関が認められた。これらのことから、治療前 EPC 値が高いことは治療への反応が乏しい可能性が示された。

さらに図 5 に示すとおり、抗癌剤治療後の無増悪生存期間を治療前 EPC の高低により比較すると、EPC の高い群で有意に短かった。以上の差異は VEGF-A、IL-8 では見られなかった。

図 5



以上より、肺癌患者では EPC が高値である点が明らかになった。さらに肺癌患者において治療前 EPC 値が高いことは、腫瘍の進展度ではなく、治療への反応性や予後が悪い点と関連しており、治療効果や予後を予測する因子となりえることが示された。

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 2 件)

1. 守田亮、佐藤一洋

肺癌の進展における血管内皮前駆細胞 (Endothelial progenitor cell) の関与についての検討. 日本呼吸器学会. 2010 年 4 月 25 日 京都

2. Ryo Morita, Kazuhiro Sato.

Endothelial Progenitor Cell Is Associated With Tumor Size In Human Non-Small Cell Lung Cancer. American Thoracic Society, May 18 2010. New Orleans, Louisiana

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤一洋 (SATO KAZAUIHIRO)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号：30436191

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：