

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：35303

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15516

研究課題名(和文) 白血病細胞を”みなごろし”にする基礎研究

研究課題名(英文) Achievement of Total Cell Kill on leukemia

研究代表者

岡本 秀一郎 (Okamoto, Shuichiro)

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10529035

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、抗癌剤耐性のメカニズムを解明するため骨髄内の環境因子に着目した。特に、白血病細胞と骨髄内の血管内皮細胞の間で行われるシグナル伝達に重要な血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の役割に着目した。VEGFは、白血病細胞の耐性化と関連があると報告があるが、詳細は不明であった。我々は、VEGFをブロックした状態で白血病細胞の耐性化がどのように影響を受けるかを評価し、VEGFは白血病細胞の耐性化を直接誘導しないことを明らかにした。一方で、VEGFは血管内皮細胞を白血病細胞の周囲に引き寄せることで、抗癌剤に抵抗性を示す特殊な空間である血管ニッチの形成を引き起こすことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題では、骨髄内の環境因子による抗癌剤耐性化のメカニズム解明に取り組んだ。骨髄内環境は極めて複雑で解析が困難であるため、生体外で骨髄内環境を再現できる培養環境を確立して解析を進めた。その結果、抗癌剤感受性における血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の役割を明らかにした。また、本課題研究中に確立した骨髄内環境を再現した培養方法をさらに発展させて、抗癌剤抵抗性の解析を継続している。

研究成果の概要(英文)：In this project, we studied the role of environmental factors in the bone marrow to clarify the mechanism of anticancer drug resistance. In particular, we focused on vascular endothelial growth factor (VEGF), an important signaling factor between leukemic cells and vascular endothelial cells in the bone marrow, which has been reported to be associated with chemoresistance of leukemic cells, but the details were unknown. Using knockout cells, we investigated how VEGF affects the chemoresistance of leukemia cells. Our analysis revealed that VEGF does not have enough efficacy to induce chemoresistance directly in leukemia cells. On the other hand, we have shown that VEGF indirectly induces chemoresistance by forming a vascular niche that protects leukemic cells from anticancer drugs.

研究分野：血液腫瘍

キーワード：白血病 抗癌剤抵抗性

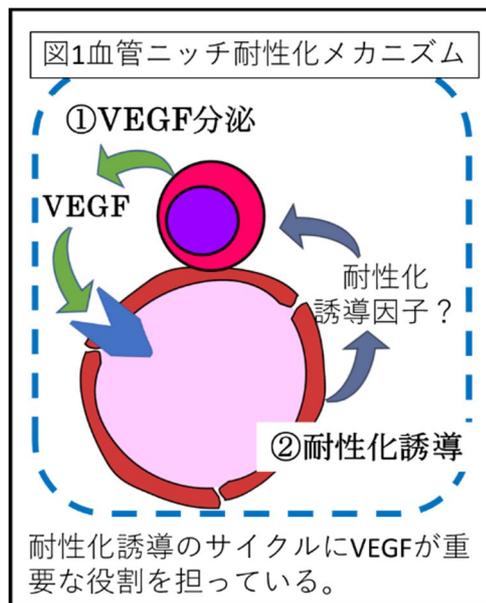
### 1. 研究開始当初の背景

急性骨髄性白血病に対して様々な治療が試みられているが、治療成績は十分ではない。抗癌剤治療を困難にしている原因として、抗癌剤に対する抵抗性の問題がある。しかし、抗癌剤抵抗性が誘導されるメカニズムについては不明な点が多い。特に、白血病細胞が存在している骨髄内の環境因子が抗癌剤感受性に与える影響については、解析が困難であり解明しなければならない問題である。

### 2. 研究の目的

本課題では、骨髄内で耐性を誘導する因子として骨髄内の環境因子に着目した。骨髄内で耐性化に関与していると考えられている環境因子として、低酸素や線維芽細胞や骨芽細胞など、白血病を取り囲む細胞集団からの影響が想定されている。しかし、それぞれの因子が耐性を誘導するメカニズムについては不明な点が多い。申請者は、骨髄内の環境因子で耐性を誘導すると注目されていた、血管内皮細胞に着目した。白血病細胞の中には、血管新生を促進する働きのある、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)を分泌するものがあり、それらの白血病では予後が不良との報告があったが、詳細は不明であった(図 1)。そこで、VEGF と白血病の抗癌剤耐性の関係について解析した。

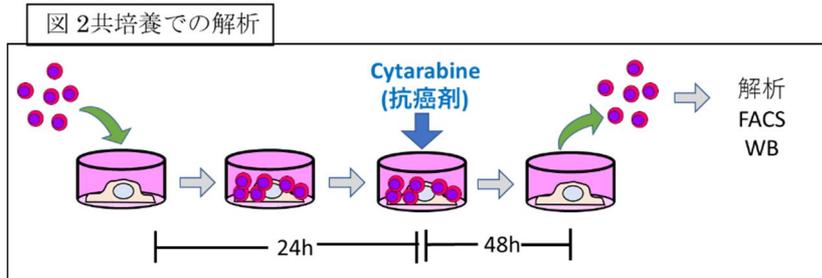
骨髄内での耐性メカニズムを明らかにすることができれば、耐性を克服できる新たな利用法開発につながる可能性がある。



### 3. 研究の方法

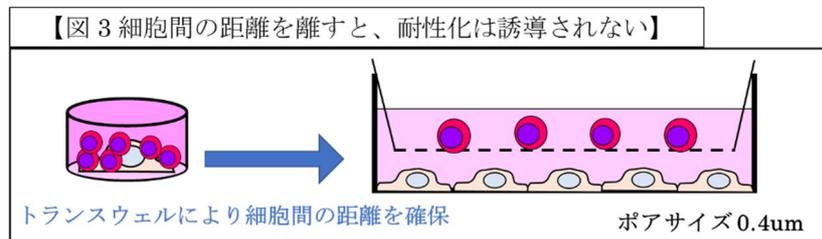
骨髄内環境に関する研究を行うため、血管内皮細胞と白血病細胞を共培養した培養方法を活用して解析を行った。

この培養方法では、白血病細胞が抗癌剤抵抗性を獲得していることをフローサイトメトリー(FACS)やウエスタンブロット法(WB)で確認した(図 2)。



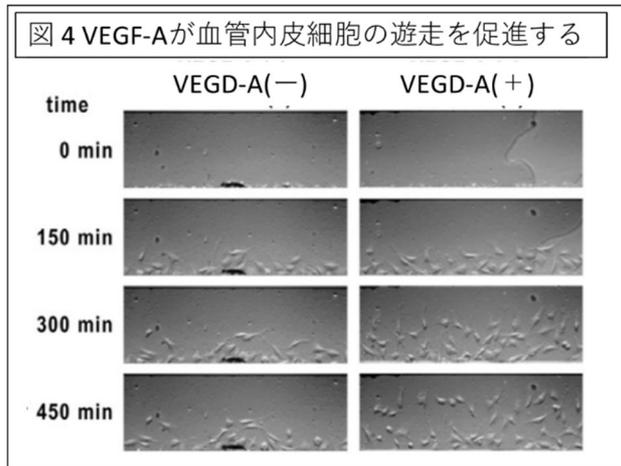
この培養システムで誘導される耐性化に、VEGF-VEGFR シグナルがどのように作用しているかを明らかにするため、VEGF-R 阻害剤である SU4312 や、VEGF-R をノックアウトした血管内皮細胞を樹立して解析した。その結果、VEGF-VEGFR シグナルをブロックしても耐性化は誘導されることを確認した。

一方で、血管内皮細胞と白血病細胞の距離を離れた状態で培養を行った結果、耐性化が阻害されることを明らかにした(図 3)。



これらの結果から、白血病の耐性化には VEGF-VEGFR シグナルが直接的に作用しているのではないことが明らかとなった。

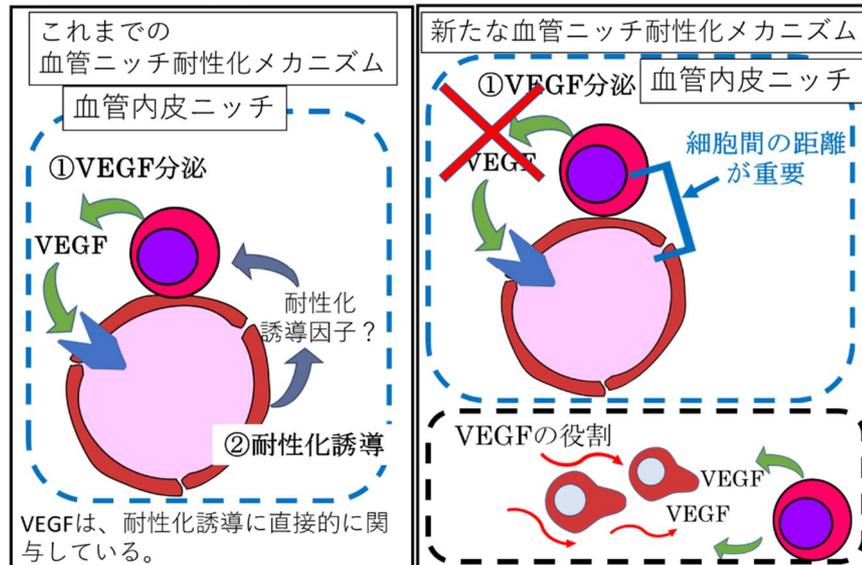
VEGF-VEGFR シグナルは、血管内皮細胞を遊走させることが知られており、本課題でも確認している(図 4)。この働きにより白血病細胞から分泌された VEGF-A が血管内皮細胞を遊走させて、白血病と血管内皮細胞との距離を縮める働きをすることで、間接的に耐性化を誘導していると考えられた。



#### 4. 研究成果

本課題により、白血病細胞が骨髓内で血管内皮細胞とどのような影響を受けて耐性化が誘導されているかを明らかにした。耐性化に重要であると考えられていた VEGF-VEGFR シグナルに白血病細胞に耐性化を誘導する働きは確認できなかった。しかし、血管内皮細胞を遊走させることで血管内皮細胞と白血病細胞の距離を縮めることで耐性化を間接的に誘導していることが明らかとなった(図 5)。

【図 5 VEGFは、血管ニッチ形成前に重要な働きをしている。】



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shuichiro Okamoto , Kei Miyano , Keisuke Kitakaze , Hitomi Kato , Akira Yamauchi , Mizuho Kajikawa , Momoe Itsumi , Chikage Kawai , Futoshi Kuribayashi	4. 巻 8
2. 論文標題 Coculture in vitro with endothelial cells induces cytarabine resistance of acute myeloid leukemia cells in a VEGF-A/VEGFR-2 signaling-independent manner	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 78-84
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.11.090.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡本秀一郎, 宮野佳, 加藤瞳, 川井千景, 山内明, 栗林太,
2. 発表標題 Role of VEGF-A/VEGFR-2 signaling for chemoresistance at the endothelial niche
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔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
---------	---------