

腫瘍内に正常血管網を再構築することにより 放射線耐性を克服する

[1] 組織

代表者：江崎 太一

(東京女子医科大学)

対応者：福本 学

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

北原 秀治 (東京女子医科大学)

桑原 義和 (東北大学加齢医学研究所)

福本 基 (東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 248,400 円

[2] 研究経過

(本研究の目的・概要)

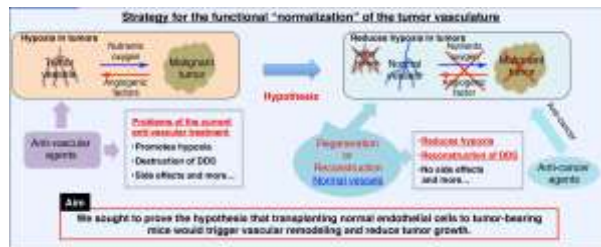
腫瘍増殖には血管が必須である。その腫瘍血管を制御できれば、低酸素などの腫瘍内環境を改善し、確実なドラッグデリバリーシステム (DDS) の構築や、放射線感受性の向上が期待出来る。ところが、実際の抗腫瘍血管療法は、理論的に期待されているほどの効果が上がっていない。われわれはその腫瘍内環境が改善されない原因の一つが、形態的、機能的にも異常である腫瘍血管にあると考え、腫瘍内に正常型血管を再生、再構築することで、低酸素化の改善などができないかと考え、以下の実験を想定した。ヒト扁平上皮癌を移植した SCID マウスにシスプラチンを投与すると、腫瘍細胞が一時的に壊死する。腫瘍血管も一時的に退縮するが、その部分を詳しく解析してみると、血流がない血管の基底膜だけのゴーストなど、細胞が再び増殖するための足場 (scaffold) が存在していることがわかった。そこで、その場所に再び血管新生因子を含む畑 (soil) となるものを投与、または前駆細胞などのいわゆる種 (seed) を移植し、血流を再開させることは出来ないかと考えた。

本研究に先駆けた実験において、標準的な放射線治療と同様に SAS や HeLa に 1 日 2Gy の X 線を継続的に分割照射し、臨床的放射線耐性細胞 SAS-R や、HeLa-R の樹立に成功した。これらの細胞は、X 線を 1 日 2Gy 30 日以上照射しても増殖し続けるという特徴を有し、遺伝的背景が同じである親株との比較を

することにより、放射線耐性に特有な分子生物学的特徴を解明するために非常に有益な細胞である。

これらの腫瘍細胞を SCID マウス皮下に移植すると、放射線耐性腫瘍では親株腫瘍と比較して、腫瘍血管の密度が有意に高いことが確認できた。そこで、予備実験として、SAS、HeLa、KB 腫瘍に抗腫瘍薬 (CDDP) を投与し、その腫瘍内の微小環境の変化を観察した。腫瘍内の血管は透過性の亢進がみられ、血栓の出現、内皮細胞、基底膜の順に壊死していくことがわかった。以上の結果より、臨床放射線耐性腫瘍克服のために、さらにその特性を追究するために、臨床放射線耐性腫瘍内の腫瘍血管を正常血管に置き換える研究計画を立案した。予備実験として通常腫瘍を用いて下記の実験を行った。

本研究の仮説の図



(研究活動状況の概要)

H25年4月20～23日：Experimental Biology2013 (ボストン)にて「正常血管再生療法は新しい癌治療戦略になり得るか？」という演題にて研究成果のポスター発表を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

現在までに以下に示す研究成果を得た。

第一に、抗腫瘍薬を投与した腫瘍内の微小環境の変化に注目し、破綻した血管、壊死した腫瘍細胞とその周囲の間質の変化を詳しく調べ、血管を再生させるための足場が存在することが確認できた (図3)。

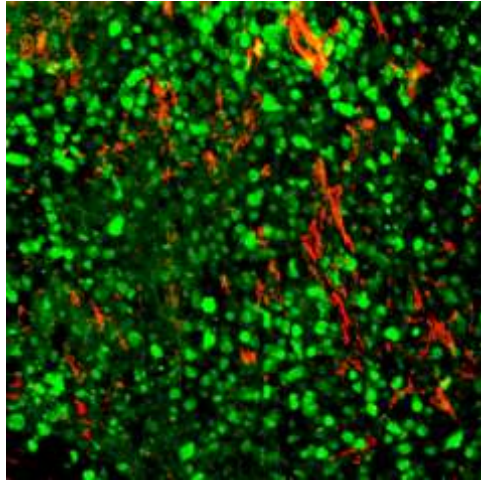
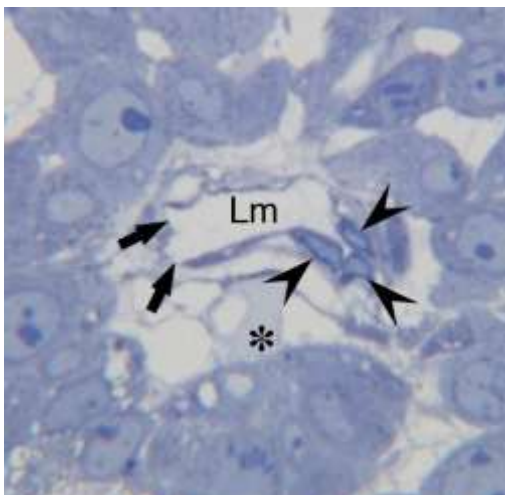


図3 CDDP 投与後の腫瘍内の線維成分
腫瘍壊死層にはTypeIV コラーゲン陽性成分が多数存在し、再生に必要な足場が存在することが確認できた。緑：TUNEL、赤：TypeIVcollagen
Bar: 150 μm

第二に、臨床的放射線耐性腫瘍では、間質が多く、腫瘍血管密度も高く、VEGF の発現も高いことがわかっている。VEGF 発現量の多い血管は未熟な腫瘍血管であるため、透過性の亢進や、血流の不均一のために、腫瘍内の低酸素化が進んでいる。我々は、腫瘍内に VEGF の発現が少ない血管を誘導すれば、低酸素化が改善されると仮定し、SCID マウスに SAS や HeLa、KB を移植し、腫瘍内に内皮前駆細胞 (ES 由来) を移植し、正常血管を再生させた。すると、移植した血管と宿主側の血管に吻合がみられ、血流の回復が認められた (図4)。さらに、正常血管を再生させた腫瘍の成長速度は通常腫瘍より遅いことがわかった。この結果は、引き続き、放射線耐性腫瘍での同様の研究へと発展する足がかりであり、将来的に、放射線耐性克服への道となることが示唆された。

図4 再生した正常血管



矢頭でわかるように、違う染色性を示す内皮細胞がキメラ上に吻合し

て血管を作っている。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化に寄与した。また、本研究で明らかになった放射線や抗がん剤治療後の腫瘍血管の形態学的・機能的解析は、他の癌治療後の腫瘍内血管の組織学的評価や、移植再建分野における移植片とレシピエント側との血管吻合を可視化できるシステムとして、他の新しい研究にも応用可能であり、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

1: Kuwahara Y, Mori M, Kitahara S, Fukumoto M, Ezaki T, Mori S, Echigo C, Fukumoto M: Targeting of tumor endothelial cells combining 2 Gy/day of X-ray with Everolimus is the effective modality for overcoming clinically relevant radioresistant tumors. *Cancer Med.* 2014. (in press)

2: Momoki Y, Kitahara S*, Kuwahara K, Sasaki R, Ando T: Establishment of a normalized revascularization mouse model using tumor transplantation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology.* 26 (1): 80-88, 2014.