

論 文 内 容 要 旨

題目 Chronic inhibition of tumor cell-derived VEGF enhances the malignant phenotype of colorectal cancer cells  
(腫瘍細胞由来の VEGF を慢性的に阻害すると大腸がん細胞の悪性形質化を増強する)

著者 Naoko Yamagishi, Shigetada Teshima-Kondo, Kiyoshi Masuda, Kensei Nishida, Yuki Kuwano, Duyen T. Dang, Long H. Dang, Takeshi Nikawa, and Kazuhito Rokutan  
平成 25 年 5 月 7 日発行 BMC Cancer 第 13 巻 229 号 1 頁から 11 頁に発表済

内容要旨

VEGF を分子標的とした血管新生阻害剤は、特定の悪性腫瘍に対して有効な治療薬となっている。しかし、多くの患者において VEGF 阻害剤の効果は一時的であり、腫瘍は抵抗性を獲得してしまう。この抵抗性獲得のメカニズムの一つとして、VEGF レセプターを発現するがん細胞に対する VEGF 阻害剤の直接作用が考えられる。本研究では、ヒト大腸がん細胞株を用いて、長期的な VEGF 阻害が大腸がん細胞に与える影響について検討した。

2 種類のヒト大腸がん細胞株 (HCT-116, RKO) に対して抗 VEGF モノクローナル抗体を 2 ヶ月間継続して投与し、VEGF シグナルを慢性的に阻害した細胞株 (HCT/mAb-long, RKO/mAb-long) を樹立した。これらの細胞に加え、VEGF 遺伝子を欠損させた大腸がん細胞株 (HCT/VEGF-KO, RKO/VEGF-KO) も実験に使用した。また、VEGF レセプターキナーゼ阻害剤を用いてすべての VEGF ファミリーメンバーのシグナルを阻害した細胞も実験に用いた。アポトーシスは TUNEL 法を、スフェロイド形成能は 3D セルカルチャーシステムを用いてそれぞれ評価した。大腸がん細胞に作用する VEGF を慢性的に阻害すると、VEGF ファミリーメンバー (PlGF, VEGFR1, VEGFR2) の mRNA 発現量が代償的に増加した。さらに、これらのがん細胞は低酸素誘導性アポトーシスに抵抗性を示し、スフェロイド形成能が上昇した。このアポトーシス抵抗性は、VEGF レセプターキナーゼ阻害剤の処理あるいは Vegf mRNA をノックダウンすることにより部分的に消失した。VEGF レセプターキナーゼ阻害剤の効果は、VEGF 阻害に応答して代償的に発現が増加した VEGF ファミリーメンバーの機能を抑制した結果であり、Vegf mRNA のノックダウンの効果は、VEGF 遺伝子産物の細胞内機能を抑制した結果であると

様式(8)

考えられた。しかし、いずれの場合もアポトーシス抵抗性を完全に解除できなかったことから、VEGF 阻害により誘導されるフェノタイプには別の要因が関与する可能性が示唆された。これら大腸がん細胞 (mAb-long cell および VEGF-KO cell) では hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) が高発現しており、HIF1 $\alpha$  をノックダウンすることで、アポトーシス抵抗性が顕著に抑制された。

以上の結果から、長期的に VEGF を阻害すると大腸がん細胞の悪性形質化を誘導することが示され、少なくともその一部には HIF1 $\alpha$  が関与することが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

報告番号	甲医第 1169号	氏名	山岸 直子
審査委員	主査	高山 哲治	教授
	副査	勢井 宏義	教授
	副査	井本 逸勢	教授

題目 Chronic inhibition of tumor cell-derived VEGF enhances the malignant phenotype of colorectal cancer cells  
(腫瘍細胞由来の VEGF を慢性的に阻害すると大腸がん細胞の悪性形質化を増強する)

著者 Naoko Yamagishi, Shigetada Teshima-Kondo, Kiyoshi Masuda, Kensei Nishida, Yuki Kuwano, Duyen T. Dang, Long H. Dang, Takeshi Nikawa, and Kazuhito Rokutan

平成 25 年 5 月 7 日発行 BMC Cancer 第 13 巻 229 号 1 頁から 11 頁に発表済  
(主任教授 六反一仁)

要旨 血管内皮細胞増殖因子(VEGF)を分子標的とした血管新生阻害剤は、特定の悪性腫瘍に対して有効な治療薬となっている。しかし、治療抵抗性を獲得する腫瘍も多く、臨床的に問題となっている。本研究は、この耐性獲得のメカニズムを明らかにする目的で、抗 VEGF モノクローナル抗体存在下でヒト大腸がん細胞株を長期間(2ヶ月間)培養し、慢性的な VEGF 阻害による大腸がん細胞の悪性形質化とそのメカニズムを検討した。得られた結果は以下の如くである。

1. 抗 VEGF モノクローナル抗体を用いて VEGF シグナルを慢性的に阻害した大腸がん細胞では、VEGF ファミリーメンバー (PlGF, VEGFR1, VEGFR2) の mRNA 発現量が代償的に増加し

た。さらに、これらの細胞は、低酸素誘導性アポトーシスに抵抗性を示し、スフェロイド形成能が上昇していた。

2. VEGF の慢性的な阻害により誘導されたアポトーシス抵抗性は、VEGF 受容体キナーゼ阻害剤の処理あるいは VEGF mRNA をノックダウンすることによりそれぞれ部分的に消失した。これらの結果により、VEGF 阻害によるアポトーシス抵抗性の獲得には、代償的に発現が増加した VEGF ファミリーメンバー及び VEGF 遺伝子の転写産物が一部分関与することが示唆された。
3. VEGF を慢性的に阻害した細胞においては、がん増悪因子である低酸素誘導因子(HIF)-1 $\alpha$ が高発現しており、HIF-1 $\alpha$ をノックダウンすることでアポトーシス抵抗性が顕著に抑制された。

以上の結果から、長期間 VEGF を阻害すると大腸がん細胞の悪性形質化を誘導することが示され、少なくともその一部には HIF-1 $\alpha$  が関与することが示唆された。本研究は、悪性腫瘍が VEGF 標的治療に抵抗性を獲得するメカニズムの一端を明らかにし、抵抗性克服のための治療標的を示唆するものであり、学位授与に値すると判定した。