

平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 研究成果報告書

平成21年6月30日

公立大学法人横浜市立大学
理事長 様

平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 (W20016) で行った研究成果等は下記のとおりです。

記

1 研究者情報	研究代表者氏名 (所属・職位)	下山田 博明 (大学院医学研究科病態病理学・助教)			
2 事業情報	新規・継続の分け				
	研究費の区分	若手人材育成推進費 (自然科学)			
	研究課題名	肺癌胸膜播種実験動物モデルを用いた血管内皮増殖因子とその受容体の相互作用と胸膜播種形成の関係解明ならびに血管内皮増殖因子阻害による治療効果の検討			
	研究実施期間	平成20年7月1日 ~ 平成21年3月31日			
	研究ユニットの構成 <small>※研究代表者も含む ※研究計画書と相違のないようご注意ください。</small>	所属名・企業名等	役職名	氏名	役割
	横浜市立大学医学研究科病態病理学	助教	下山田 博明	研究代表者	
3 研究概要	<p>肺腺癌の多段階的な悪性化の過程において、肺癌が発現する血管内皮増殖因子群(VEGF-family)が重要な役割を果たすことが明らかになってきている。また、特に VEGF-A は肺癌の予後不良因子である癌性胸水の形成に関与することが報告されている。これらの知見により、申請者はこれまで、マウスにおける肺癌胸膜播種モデルを確立し、ヒト肺癌における血管内皮増殖因子群(VEGF-family)の発現状態と肺癌の生物学的 behavior を病理学的に解析してきた。本研究では、マウス肺癌胸膜播種モデルを用いて、VEGF-family とその受容体 (VEGFR-1, -2, -3) と肺癌の浸潤動態との相互作用をヒト肺癌ならびにマウス肺癌胸膜播種モデルにおいて解明し、それらの相互作用を阻害することによる肺癌浸潤形態に及ぼす影響を検討する。また同時に、VEGF-A の肺癌における発現機序についても検証していく。</p>				
4 研究成果	<p>※研究成果については、2,000 字程度で記入して下さい。(絵、図入りも可)</p> <p>※地域貢献促進費の方は課題提案者に提出する報告書(必須)をご提出頂きますので、この欄は記載しないで結構です。その他の方は別紙を用意せず、この枠の中に記入するようにして下さい。(枚数は問いません)</p>				

本研究では、肺癌における VEGF-A、-C、-D と VEGFR-1、-2、-3 の全ての発現と相互作用を病理組織学的、分子細胞生物学的に解析するとともに、VEGF-family の作用機序をターゲットとする肺癌胸膜播種、浸潤、転移をコントロールする方法を解明することを目標としている。VEGF-family の作用機序をターゲットとした抗腫瘍効果がある因子として、可溶性の VEGF 受容体に注目しており、肺癌胸膜播種モデルにおいてその効果を検証している。また、ヒト肺癌の切除検体を用いた large scale の VEGF-family/VEGFR 群の発現解析も病理組織学的に平行して行っており、まず、ヒト肺腺癌における VEGF-A の発現とその発現機序に注目した分子生物学的、かつ免疫組織学的解析を行った。

1) マウス肺癌胸膜播種モデルに使用する可溶性ヒトVEGFR-1、-2、-3 (sol-hVEGFR-1、-2、-3)の作製について

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) より total RNA を抽出し、その RNA を鋳型として、RT-PCR 法を用いて hVEGFR-1、-2、-3 の cDNA をクローニングした。これらの cDNA より hVEGFR 群の細胞外可溶性ドメイン部をコードしている cDNA 部分を特異的なプライマーを用いて PCR 法で増幅、精製し、レトロウイルスベクターに挿入し、sol-hVEGFR 群を発現するレトロウイルスベクターを作製中である。インサート cDNA が 2.3~2.4kb とやや大きく、ベクターに挿入困難であったが、PRev sol-hVEGFR-2、pQCXIH sol-hVEGFR-2、pQCXIP sol-hVEGFR-3 の作製に成功している。今後 pQCXIN sol-hVEGFR-1、PRev sol-hVEGFR-1、pQCXIP sol-hVEGFR-3、PRev sol-hVEGFR-3 を追加で精製し、パッケージング細胞 (Φ MP34 細胞等) に感染させ、上清より高力価のウイルス液を精製し、マウス肺癌胸膜播種モデルに使用する予定である。

2) ヒト肺癌におけるVEGF-family/VEGFR群の発現部位、発現強度バランスについての解析

レトロウイルスベクターの作製と並行して、ヒト肺癌における VEGF-family と VEGFR 群の発現を免疫染色で解析中である。VEGF-family のなかでも特に VEGF-A が、肺腺癌の分化度に相関した発現傾向が見られており、現在、集中的にヒト肺腺癌における VEGF-A の発現について解析中である。今までのところ mucinous BAC を除くヒト肺腺癌 97 例について VEGF-A 発現解析が終了し、肺腺癌の分化度が悪くなるにつれて VEGF-A の発現は高くなっており、結果的に予後不良性と相関する可能性が高い。あわせて、VEGF-A の発現に関わる因子として、転写因子である Egr-1 と HIF-1 α 、かつ Egr-1 の corepressor の 1 つである NAB2 についても解析した。Egr-1 は少なくとも肺腺癌における VEGF-A の発現に深く関与し、Egr-1 の転写活性を抑制する NAB2 の発現とともに、VEGF-A の発現は減弱していた。免疫組織化学的解析では、ヒト高分化型腺癌では NAB2 の発現が強く、VEGF-A の発現が減弱していた。低分化腺癌では NAB2 の発現が弱く、VEGF-A の発現が亢進していた。すなわち肺腺癌では Egr-1/NAB2 の発現バランスが VEGF-A の発現に関与しており、低分化腺癌になるに従い NAB2 によるネガティブフィードバックが失われ、その結果 VEGF-A の発現が亢進している可能性が見いだされた。

5 研究成果の活用 (予定)

例) 平成 22 年度 科学研究費補助金 (基盤 S) に申請予定

例) 第〇会 〇〇学会に論文発表予定

例) 研究成果が横浜市〇〇事業に活用され、当該事業の PR イベントが開催された際に広報チラシ等に「横浜市立大学 研究戦略プロジェクト事業」との関連を記載した。

平成 22 年度 科学研究補助金 (基盤 C) に申請予定

第 98 回 日本病理学会総会にて発表 (平成 21 年 5 月京都)