



Title	Biglycanを標的とした化合物による腫瘍血管新生抑制効果の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	竹川, 英輝
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15503号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89648
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hideki_Takekawa_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 竹 川 英 輝

学 位 論 文 題 名

Biglycan を標的とした化合物による腫瘍血管新生抑制効果の検討

キーワード（5つ）腫瘍血管，血管新生阻害剤，Biglycan，Celastrol，コレステロール

腫瘍血管は腫瘍細胞への栄養と酸素を血液供給で担っており、腫瘍の成長には腫瘍血管新生と呼ばれる新しい血管の形成が必要である。血管新生がおこななければ、腫瘍は直径 1 ～2 mm 以上に成長せず、休眠状態のままであるといわれている。「血管新生を制御することで兵糧攻めにより腫瘍増殖を抑制する」という血管新生阻害療法の概念は、血管新生因子の一つである血管内皮増殖因子（VEGF: vascular endothelial growth factor）を標的とした薬剤の開発に至り、現在ではヒト化 VEGF モノクローナル抗体ベバシズマブの他、VEGF およびそのシグナル伝達を阻害する薬剤が多くの癌種の治療に使われ、血管新生阻害療法は癌治療法の一つとして広く用いられている。しかし、VEGF は正常血管内皮細胞の生存にも不可欠であり、その傷害による出血や高血圧などの有害事象が生じるため、投与量に制限があり、単独使用では十分な薬効を得られないため、抗がん剤と併用で用いられている。正常血管内皮細胞を傷害せず腫瘍血管内皮細胞を特異的に阻害する薬剤の開発や、VEGF シグナル単一分子を標的にするのではなく、複数のシグナル経路遮断や代謝経路の阻害など多様な抗血管新生戦略が必要であると考えられている。

腫瘍血管内皮細胞は正常血管内皮細胞とは異なる性質を示すことが近年明らかにされてきた。我々はこれまで正常血管内皮細胞に比べて腫瘍血管内皮細胞で糖タンパク Biglycan

が高発現していること、血管新生ならびに転移促進に関与していることなどを報告してきた。したがって、腫瘍血管の Biglycan を標的とすることで腫瘍血管に特異的で副作用の少ない治療が期待されるが、中和抗体などの Biglycan 阻害剤は市販されていない。そこで、Biglycan 阻害効果を示す薬剤や化合物を文献的に探索したところ、Celastrol が候補にあがった。本研究では Biglycan を高発現する腫瘍血管内皮細胞に対して Celastrol の作用を解析し、新たな血管新生阻害剤としての可能性を検討した。

Celastrol による Biglycan 阻害効果を検討するため、これまで腫瘍血管において Biglycan 発現が高いことを報告しているマウス乳がん細胞株 E0771 の同所移植モデルを用いた。担癌マウスに Celastrol を投与し、抗腫瘍効果を検討したところ、WT マウスでは著明な抗腫瘍効果が認められた一方で、Biglycan ノックアウトマウスでは抗腫瘍効果はみられなかった。摘出した腫瘍組織を用いた免疫組織学的解析により、WT マウスでのみ Celastrol 投与による血管新生阻害効果があることが示された。先行文献では *in vitro* で腫瘍細胞に対する Celastrol 処理により、Biglycan 発現抑制効果が示されていたものの、本治療実験では Celastrol による腫瘍血管の Biglycan 発現阻害効果は認められなかった。

続いて Celastrol による腫瘍血管内皮細胞への作用を明らかにするため、*in vitro* で培養血管内皮細胞を用いて検討した。Celastrol は正常血管内皮細胞に比較して、より腫瘍血管内皮細胞に対して細胞増殖抑制効果を示した。また、腫瘍血管内皮細胞における Biglycan 発現を抑制すると、Celastrol による細胞増殖抑制効果が減弱した。さらに、Biglycan と Celastrol の関係を明らかにするため、Biglycan 発現の低い正常血管内皮細胞 MS-1 に Biglycan タンパクを添加した。Celastrol 単独処理では MS-1 の細胞増殖に影響がみられない一方で、Biglycan タンパク存在下では MS-1 の細胞増殖は顕著に低下した。以上より Celastrol の血管内皮細胞に対する増殖抑制効果には Biglycan が関与していることが示唆された。

これらの分子メカニズムを明らかにするため、Biglycan ノックダウン腫瘍血管内皮細胞 (shBgn SM-EC) と Control 腫瘍血管内皮細胞 (shGFP SM-EC) を用いて Celastrol 処理を行い、RNA シークエンス解析を行った。パスウェイ解析ソフトウェア IPA を用いた解析により、Celastrol が Biglycan を介してコレステロール生合成経路を阻害することが示唆された。その中でも、コレステロール生合成を調整する転写因子 SREBP2 の発現制御に影響を与えていることが示唆された。正常血管内皮細胞に比較して腫瘍血管内皮細胞では SREBP2 の発現が高く、WT マウスでは Biglycan ノックアウトマウスよりも SREBP2 発現が抑制されていた。

以上のことから、Celastrol は Biglycan を介して腫瘍血管内皮細胞のコレステロール生合成を阻害することで、細胞増殖を抑制することが示唆された。Biglycan は腫瘍血管内皮細胞において特異的に発現が亢進していることから、Celastrol は正常血管を傷害せず腫瘍血管をより特異的に標的とする新たな血管新生阻害剤として期待される。