

新たな乳癌骨転移メカニズムの解明 ～選ばれた細胞が転移する～

千葉大学薬学部薬学科5年 九鬼 和雅

Selection of bone metastasis seeds by mesenchymal signals in the primary tumor stroma

Xiang H.-F. Zhang, Xin Jin, Srinivas Malladi, Yilong Zou, Yong H. Wen, Edi Brogi, Marcel Smid, John A. Foekens, and Joan Massagué

Cell, 154, 1060-1073 (2013)

多くの乳癌細胞では、エストロゲン受容体 (ER) やプロゲステロン受容体 (PgR) などのホルモン受容体や HER2 (ERBB2) チロシンキナーゼが過剰発現していることが知られており、これらをターゲットにした分子標的薬による治療が現在主流となっている。一方で、ER, PgR, HER2 が全て陰性の乳癌をトリプルネガティブ乳癌 (TNBC, triple negative breast cancer) と呼び、明確な治療標的が無いことから効果的な治療法の開発が望まれている。

Src, H-Ras, β -catenin, E2F3, Myc を全て過剰発現させることで発現量が変化した 159 個の遺伝子発現パターンを SRS (Src response signature) と呼び、乳癌の骨転移との関連性が以前から報告されている (Zhang et al., *Cancer Cell*, 16, 67-78, 2009)。クラスタ解析によって乳癌細胞の SRS パターンを 2 つに分類し、Src が活性化している乳腺上皮細胞の遺伝子発現パターンと近い方を SRS (+)、もう片方を SRS (-) と定義する。

通常 TNBC は肺・肝臓・脳などの臓器に転移するが、SRS (+) の TNBC は骨に転移しやすいことが知られている。しかし、TNBC の臓器特異的な転移のメカニズムについては未解明な点が多く残されている。本論文では、TNBC において優先的に骨転移する細胞が現れるメカニズムを明らかにした。

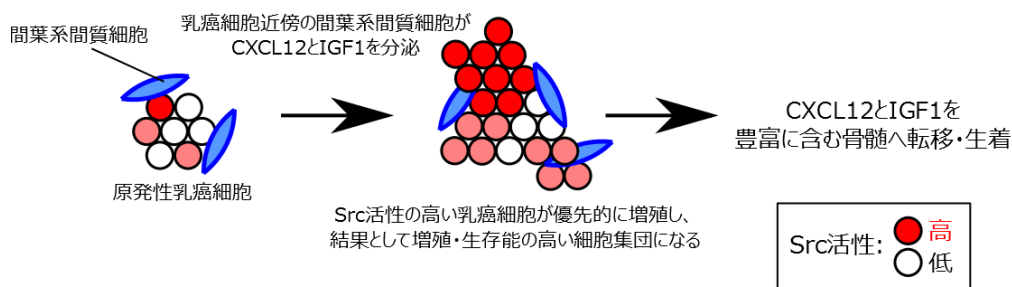
まず筆者らは TNBC のデータベースから SRS 関連遺伝子を抽出し、その中から骨転移に関連することが知られている CXCL12 (C-X-C motif ligand 12) と IGF1 (insulin-like growth factor 1) というサイトカインに着目した。CXCL12 と IGF1 は骨髄に多く含まれ、それぞれの受容体に結合することで、Src 活性依存的に PI3K-Akt 経路を活性化し、増殖・生存能の上昇などに寄与することが知られている。また、TNBC 患者の骨転移リスクは、CXCL12 と IGF1 が過剰発現している患者の方がそうでない患者よりも優位に高い。次に、筆者らは様々な間質細胞における特異的な遺伝子発現パターンと SRS との関連性を調べた。その結果、繊維芽細胞や筋繊維芽細胞といった間葉系細胞特異的な遺伝子の発現量は、SRS (-) を示す場合よりも SRS (+) を示す場合の方がより高い傾向にあることが分かった。また、SRS 関連遺伝子と間葉系間質細胞において高発現している遺伝子のいくつかが共通しており、その中には *CXCL12* や *IGF1* 遺伝子も含まれていた。さらに、間葉系間質細胞で過剰発現している遺伝子の発現量を、様々な転移乳癌細胞間で比較した。その結果、骨転移した細胞での遺伝子の発現量が最も多く、それらの遺伝子発現量が多いほど骨転移リスクが高いことも分かった。

これらの結果を踏まえ、筆者らは原発巣の細胞が転移能を自律的に獲得するメカニズムと

して” metastasis seed preselection” 仮説を提唱した。これは、CXCL12 と IGF1 が至適濃度で分泌されることによって、Src 活性の高い一部の細胞が優先的に増殖・生存能を獲得した結果選択され、最終的に転移先でも生き残り増殖することのできる細胞群へ変化するという仮説である。この仮説を支持する細胞株を樹立するために、細胞の選択因子として働くための、CXCL12 と IGF1 の至適な濃度を設定した。この条件下では、SRS (+) を示す細胞と SRS (-) を示す細胞とで PI3K-Akt 経路の活性に大きく差がつく。そして、TNBC 細胞の一種である MDA231 細胞に至適濃度の CXCL12 と IGF1 を加えることにより、SRS (+) を示しかつ Src 活性の非常に高い MDA231-CI という細胞株を樹立することに成功した。MDA231-CI 細胞をマウスの動脈に播種すると、サイトカインを加えない条件で樹立した MDA231-0 細胞に比べて非常に多くの骨転移が観察された。この骨転移は、Src のノックダウンや、dasatinib (Src というつかのチロシンキナーゼを標的にした阻害剤) の投与でキャンセルされたことから、Src 活性依存的であることが示唆された。

間葉系幹細胞 (MSC) は乳癌組織に局在していることが知られている。この状況を再現するために、筆者らは MDA231 細胞と MSC 細胞を混合培養した。MDA231 細胞に MSC 細胞を混合して培養すると、MDA231 細胞単独で培養した場合に比べて、CXCL12 と IGF1 の分泌量が増加した。また、発現遺伝子パターンは、MSC 細胞を混合した MDA231 細胞と、至適濃度の CXCL12 と IGF1 を加えた MDA231 細胞とで類似していることが分かった。さらに、MDA231 細胞と MSC 細胞を混合培養し、数回継代したものをマウス動脈に播種すると、MDA231 細胞を単独で播種した場合に比べてより多くの骨転移が見られ、混合培養したものではより強い Src 活性が観察された。また、これらの結果は CXCL12 受容体 (CXCR4) と IGF1 受容体 (IGF1R) のアンタゴニストの処理やダブルノックダウンでキャンセルされた。なお、肺へ転移したものは骨組織に比べて殆ど見られなかったことから、間葉系間質細胞が存在する微小環境では骨組織優先的に転移することが示唆される。これらの結果から、下図に示すようなモデルが考えられる。乳癌細胞近傍の間葉系細胞が CXCL12 と IGF1 を分泌することで、Src 活性の高い乳癌細胞が優先的に増加し、サイトカインの豊富な骨髄へ転移して生着・増殖する。

以上から、SRS (+) の TNBC が骨組織優先的に転移するメカニズムの一端が解明された。また、今回示されたモデルから、過剰に活性化した Src や PI3K-Akt 経路を標的にした新規乳癌骨転移治療法の開発が期待される。しかし、乳癌細胞近傍に間葉系細胞が存在するような微小環境で、CXCL12 と IGF1 がより多く分泌される詳細な仕組みが明らかになっていない。局所的なサイトカインの分泌を抑えることで、Src 活性の高い細胞の選択を阻止し骨転移を抑制できる可能性が考えられることから、今後の更なる研究の進展が望まれる。



"metastasis seed preselection" 仮説に基づいた骨転移モデル

間葉系細胞が密集している微小環境において乳癌細胞が増殖すると、間葉系細胞は CXCL12 や IGF1 を分泌する。これらのサイトカインは Src 活性の高い一部のクローンにおいて PI3K-Akt 経路を著しく活性化させ、その結果増殖・生存能を獲得した細胞が優先的に増殖してゆく。これら Src 活性の高い乳癌細胞は CXCL12, IGF1 が豊富に存在する骨髄に転移してさらに増殖し、骨腫瘍を形成する。