

CXCR4陽性滑膜肉腫 幹細胞の同定と解析



北大探索病理学講座

木村太一 特任助教



北大腫瘍病理学分野

田中伸哉 教授

●背景

滑膜肉腫は若年成人の関節近傍に好発する腫瘍で、肉腫全体の約10%を占める比較的頻度の高い腫瘍であるが、がんの9割はがん腫であり肉腫は1割と極めて少ないことから希少がんに分類されている。滑膜肉腫の治療は切除が基本であるが、転移・再発を来した症例に関してはその希少性から有効な治療法が確立されておらず、5年生存率、10年生存率はそれぞれ36%及び20%と予後不良であり、新たな治療法の開発が望まれている。

近年がんは均一な細胞集団ではなく、ごく少数存在するがん幹細胞が腫瘍の発症、進行、転移の原因の1つであることが明らかとなってきた。がん幹細胞は自己複製能と多分化能の両方の特質を有する細胞と定義され、高い造腫瘍能、化学放射線療法への抵抗性を呈することから新規治療標的として性状解析が進められており、研究が先行する造血系腫瘍や脳腫瘍、大腸がん、乳がん等ではがん幹細胞の発生、維持機構について徐々に解明が進んでいるものの、滑膜肉腫を含む肉腫においては未だ解析が進んでいないのが現状である。

そのため我々はがん幹細胞を標的とした新規治療法の開発を最終的な目的として、滑膜肉腫中のがん幹細胞の探索と特異的なマーカーの同定、性状解析を行った。

●研究手法

滑膜肉腫中にごく少数存在するがん幹細胞がどうかを評価するために、がん幹細胞がスフィアと呼ばれる浮遊する細胞の塊を形成し、非幹細胞よりも生育しやすい培養条件の検討を行った。種々の条件を検討した結果、無血清培地に少数の増殖因子のみを添加した培地と低接着性の培養皿を用いた幹細胞培養条件を確立した。3種類の滑膜肉腫を幹細胞培養し、スフィア形成の有無と幹細胞性遺伝子であるNANOG、OCT3/4、SOX2の発現量で腫瘍幹細胞の濃縮を評価した。次にcDNAマイクロアレイを用いてスフィア形成群で発現上昇の見られる遺伝子を網羅的に同定し、がん幹細胞との関連をデータベース解析により検討した結果、ケモカインレセプターであるCXCR4が候補遺伝子として同定された。

セルソーターを用いてCXCR4陽性細胞、陰性細胞をそれぞれ分取し、NOD/SCIDマウスの皮下に移植する事で腫瘍形成を行い、CXCR4陽性細胞が腫瘍幹細胞の特質である自己複製能、多分化能を有するかどうかの検証を行った。また九州大形態機能病理学講座の小田義直教授の協力のもと、39症例の滑膜肉腫症例を用いてCXCR4の発現と生存期間との関係を免疫染色、統計学的手法により解析した。

●研究成果

3種類の滑膜肉腫細胞株を幹細胞培養したところ、全ての細胞株でスフィア形成が確認され、幹細胞遺伝子の発現の上昇が見られたことから滑膜肉腫の中にはがん幹細胞が存在する事が確認された(図1)。

マウスへの腫瘍の移植実験により、CXCR4陽性細胞は400個移植しただけで腫瘍を形成するのにに対し、陰性細胞では腫瘍を形成するために1万個の腫瘍細胞が必要であることから、CXCR4陽性細胞は陰性細胞に比べて約25倍高い造腫瘍能をもつことが判明した。CXCR4陽性細胞をマウスに移植し形成された腫瘍を摘出し継代移植実験を行ったところ、CXCR4陽性細胞でのみ2代目の腫瘍が形成され、2代目の腫瘍は初代と同様の組織像を示すことからCXCR4陽性細胞は自己複製能及び多分化能を有することも判明した。以上の結果から我々はCXCR4が滑膜肉腫幹細胞の特異的なマーカーであると結論に至った。

次にCXCR4特異的な阻害剤が滑膜肉腫に与える影響を検討したところ、CXCR4阻害剤は腫瘍細胞の増殖を強く抑制し、CXCR4陽性細胞を減少させることが明らかとなった。また実際の滑膜肉腫症例39例を用いた免疫染色による検討では、CXCR4陽性症例は陰性症例に比べて明らかに全生存期間が短いことも判明した。これらの結果から、CXCR4は滑膜肉腫幹細胞の特異的なマーカーであると同時に、新規治療標的となり得ることが考えられる。

●今後への期待

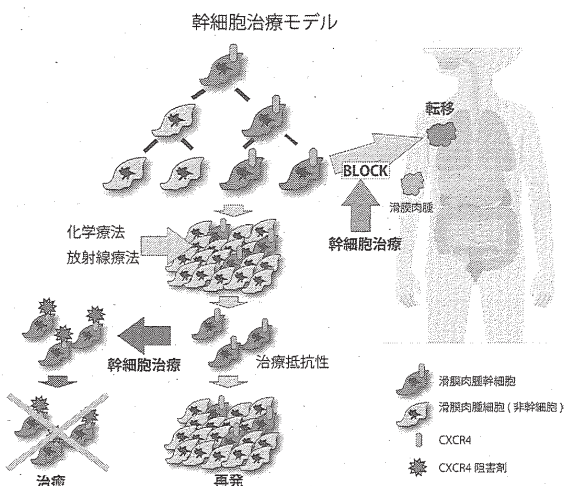
滑膜肉腫を含む希少がんは、その希少性から標準的な治療プロトコールの確立が困難であると同時に、製薬企業の創薬ターゲットになりづらいという問題点を抱えており、近年営利を目的としないアカデミアでの研究の重要性が増してきている。

今回我々は滑膜肉腫の中には自己複製能、多分化能をもち、高い造腫瘍能を示すがん幹細胞が存在することを明らかにし、CXCR4が滑膜肉腫幹細胞特異的なマーカーであることを発見した。さらにCXCR4阻害剤は滑膜肉腫の増殖を阻害すること、CXCR4の発現が滑膜肉腫患者の生存期間と関連していることからはCXCR4が滑膜肉腫の治療標的、予後の予測マーカーとなる可能性が考えられる。

CXCR4阻害剤はHIV感染の治療薬の1つとして開発が進められており、また米国及び欧州では悪性リンパ腫の治療薬として承認されている。今後の研究によりCXCR4阻害が滑膜肉腫治療に有効であるとの強いエビデンスが得られれば、日本においても悪性リンパ腫のみならず滑膜肉腫の治療薬としても承認される可能性が考えられる。

今後我々はマウス移植モデルを用いた生体内でのCXCR4阻害剤の有効性を評価するとともに、大規模な症例解析を行いCXCR4の免疫染色と予後、再発、転移等の詳細な症例データとの相関を検証することで、腫瘍幹細胞を標的とした新たな治療の開発を進めていきたい。(科研費補助金基盤研究(C)の支援で実施され、英国がん専門誌「Oncogene」に7日付で公表)

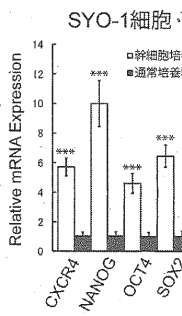
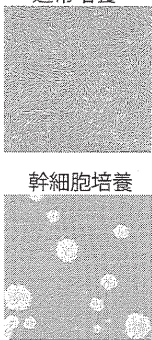
滑膜肉腫幹細胞による腫瘍の増殖、転移、再発機構と幹細胞治療モデル



がん幹細胞を標的に 新規治療法の確立へ

守

図1



SYO-1細胞の相対mRNA発現量を比較した。CXCR4、NANOG、OCT4、SOX2の発現量は幹細胞培養群で有意に高かった。