

報道関係各位

2020年5月13日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「脳腫瘍のがん幹細胞が自らを犠牲にして再発に向かわせる新たな仕組みを発見」 — がん幹細胞の特殊な細胞死を標的とした治療法開発に期待 —

【ポイント】

- 膠芽腫は極めて予後の悪い難治性の脳腫瘍であり、根治を目指した病態解明と新規治療法の開発が求められています。
- 膠芽腫細胞は特殊な死に方「オートスキジス様細胞死」を生じることを見出しました。
- がん幹細胞のオートスキジス様細胞死は腫瘍促進性のマクロファージを誘導し、再発に向かわせるという新しい仕組みを明らかにしました。
- 本研究で明らかにしたがん幹細胞の特殊な細胞死の様式と腫瘍促進・再発の仕組みを標的とする膠芽腫の根治療法開発への応用が期待されます。

東京医科歯科大学難治疾患研究所幹細胞制御分野の榊康一助教、田賀哲也教授らの研究グループは、悪性脳腫瘍に生じる新しいプログラム細胞死を同定し、がん幹細胞の死産物が腫瘍促進性のマクロファージを誘導するという新たながん再発の仕組みを発見しました(図1)。この研究は文部科学省科学研究費補助金の支

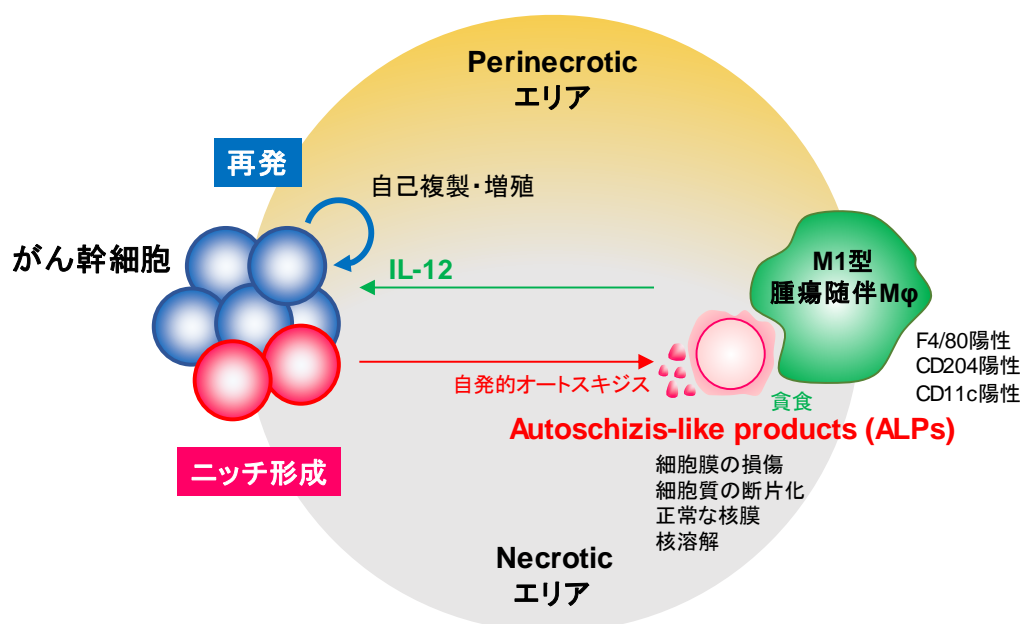


図1 オートスキジス様細胞死を介してM1型腫瘍随伴マクロファージを誘導するがん幹細胞の生存戦略

援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 Stem Cells(ステムセルズ)に 2020 年 5 月に出版予定で、それに先立ち 2020 年 4 月 28 日にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

我が国では高齢化の影響も相俟ってがんによる死亡者数が増加の一途を辿り、国民の生命と健康を脅かす重大な問題となっています。中でも膠芽腫^{※1}は極めて予後の悪い難治性の脳腫瘍であり、根治を目指した病態解明と新規治療法の開発が喫緊の課題となっています。一方、がん幹細胞は浸潤・転移、術中診断・放射線化学療法への抵抗性など、あらゆるがんの悪性形質に関与する重要な治療標的としてその臨床的重要性が確立されていますが、その制御によるがんの根治は未だ達成されていません。

がん幹細胞を取り巻く微小環境(ニッチ^{※2})は内皮細胞などの血管構成細胞や、マクロファージ(Mφ)などの免疫細胞から構成され、がん幹細胞の生存・維持に深く関与することから、理論上がん幹細胞の枯渇をもたらす治療標的として高い関心を集めています。これまでも多くの研究者がニッチの多様な構成要素を明らかにしてきましたが、一方でそれらのニッチ要素がどのように形成・維持されるかについては未だ不明な点が多く、ニッチの包括的な理解が十分に進んでいませんでした。

以前本研究グループはがん幹細胞が液性因子を分泌し、骨髄単球からマクロファージ^{※3}への分化を促すことでがん再発に寄与することを報告しました。本研究では膠芽腫が病理組織学的に壊死(ネクローシス)を特徴とすることに着目し、ネクローシスのニッチ形成における役割の解明を目指しました。

【研究成果の概要】

本研究グループは膠芽腫細胞株の通常培養系において、propidium iodide (PI)核染色液に高い染色性を示し、且つフローサイトメーター上において比較的小さなサイズを呈する死細胞画分が自発的に産生されていることを見出しました。透過型電子顕微鏡を用いた形態学的解析の結果、この死細胞は細胞膜の崩壊とメッシュ状の細胞質、細胞質の断片化と正常な核膜、核膜辺縁へのクロマチンの濃縮などネクローシスの一つ「オートスキジス(autoschizis)^{※4}」様の形態を呈していました(図2)。また DNA 含有量、活性型 caspase-3 の発現、ミトコンドリア膜電位など生化学的特性を検証したところ、核溶解(karyolysis)とオルガネラの消失を伴う非アポトーシス性の細胞死であることが確認されました。オートスキジスは 1995 年 Gilloteaux らにより発見されたがん細

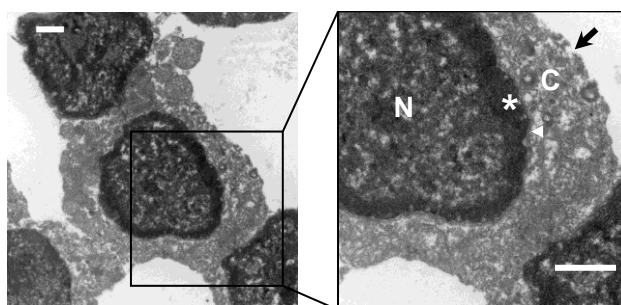


図2 C6グリオーマ細胞中に見出されたオートスキジス様細胞死産物の透過型電子顕微鏡画像。
N: スポンジ状の核、C: メッシュ状の細胞質、*: 核膜辺縁へのクロマチンの濃縮、矢印: 崩壊した細胞膜、Scale bars=1μ m。

胞を Vitamin C および K3 で処理した際に生じる誘導性の細胞死であり、本研究グループの見出したこの死産物を「オートスキジス様産物 (autoschizis-like products; ALPs)」と命名しました。本研究で ALPs は移植担癌マウスおよび患者由来細胞の初代培養系からも分離されたことから、膠芽腫に普遍的に生じる自発的細胞死であると考えられました。

免疫細胞の関わるニッチ形成・維持機構におけるがん幹細胞由来 ALPs の役割を明らかにするため、がん幹細胞および非がん幹細胞より産生される ALPs と骨髄由来 Mφ の長期培養を行ったところ、ALPs はグリオーマの腫瘍随伴 Mφ (tumor-associated Mφ, TAM) マーカー CD204 と CD11c を発現する Mφ に優先的に貪食され、特にがん幹細胞由来の ALPs を添加した場合に誘導される TAM の生存数が有意に増加することが明らかとなりました。すなわち、がん幹細胞はオートスキジス様細胞死を介して TAM の発生を促し、がん幹細胞集団としての自らの生存を図るものと考えられました。

さらに ALPs に誘導された TAM の特性を解析するため、既知の M1/M2^{※5}-Mφ マーカー遺伝子の発現を検証したところ、ALPs 添加時に M1 マーカーのひとつである Il12b 遺伝子の発現が上昇することが明らかとなりました。Il12b 遺伝子は T 細胞の活性化に関わるサイトカイン IL12 および IL23 の共通サブユニットをコードする遺伝子であることから、ALPs 誘導性の TAM はマーカー上、抗腫瘍性であると考えられました。しかし膠芽腫の再発症例においては Il12 の発現と患者予後が有意に相関し (図3)、さらに IL12 タンパク質の添加が膠芽腫患者由来がん幹細胞の自己複製・増殖能を有意に促すことも明らかとなり、ALPs 誘導 M1-TAM は膠芽腫の再発において促進性の作用を持つと考えられました。

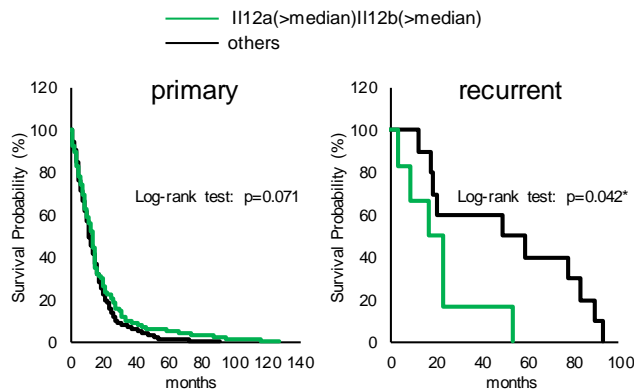


図3 膠芽腫患者初発497例、再発16例の遺伝子発現データ (TCGA) を用いた Il12 遺伝子の発現と予後との相関解析。

最後に、膠芽腫再発患者を M1-Mφ を高く含む群・M2-Mφ を高く含む群・両タイプの Mφ を含まない群に分類し、予後との相関を検証したところ、従来抗腫瘍性と考えられていた M1-Mφ を高く含む患者群が最も予後の悪いことが明らかとなりました。M1/M2 などの既存の生物学的概念の多くは外科的に摘出された初発例から得られた知見に基づくものが多く、がん幹細胞の関与する再発時の事象に対しては既存の概念に囚われないより慎重な解釈が必要であると考えられました。

【研究成果の意義】

本研究は膠芽腫における自発的ネクロシスの存在を見出し、それらがオートスキジス様の細胞死であること

を世界で初めて明らかにしたもので、今後更なる膠芽腫の病態解明が期待できます。さらに、それらの細胞死産物は単なる残骸ではなく、がん幹細胞の死産物が TAM の発生を促すことでがん再発に寄与する機能的な役割を有していました。今後このプログラムがん幹細胞死^{※6}を標的とする根治療法開発への応用が期待されます。また本研究成果は、がん幹細胞中にニッチ形成に寄与する亜集団と再発に寄与する亜集団の棲み分けが存在することを示唆しています。ニッチ形成に寄与する亜集団は、今後がん幹細胞ニッチの包括的な理解に役立つ新たな手掛かりとして、がん根治療法の開発に向けた研究を飛躍的に促すことが期待されます。

【用語解説】

※1 膠芽腫: 最も悪性度の高い脳腫瘍。5 年生存率は 10%程度と極めて予後が悪く、効果的な治療法はない。

※2 ニッチ: 西洋建築で、壁面の一部がくぼんだ龕(がん)状の部分。適所の意味が転じて、正常幹細胞・がん幹細胞を維持する微小環境の総称として用いられる。

※3 マクロファージ: 生体内の免疫システムを担う細胞の 1 つ。異物や死細胞の貪食能を有する。

※4 オートスキジス: 1998 年膀胱がん細胞を Vitamin C と K3 で処理した際に生ずる誘導性のネクローシス細胞死として命名され[Gilloteaux et al., Scanning 1998]、その名をギリシャ語の autoskhizein(自己割裂 self-split)に由来する。進行性の細胞質断裂と核融解を特徴とするが、DNase I/II の発現上昇と活性酸素の関与が報告されている以外に詳しい発生機序は明らかでない。

※5 M1/M2: マクロファージの機能的分類。M1 マクロファージが病原体や寄生虫の感染防御に働くのに対し、M2 マクロファージは組織修復に関与する。がん促進性のマクロファージは M2 型と考えられてきた。

※6 プログラム細胞死: 生理学的に計画された生体に利益をもたらす細胞の自殺。

【論文情報】

掲載誌: Stem Cells

論文タイトル: Glioma stem cell (GSC)-derived autoschizis-like products confer GSC niche properties involving M1-like tumor associated macrophages

【研究者プロフィール】

榎 康一 (タブ コウイチ) Tabu Kouichi

東京医科歯科大学難治疾患研究所

幹細胞制御分野 助教

・研究領域

腫瘍生物学

化学生物学

田賀 哲也 (タガ テツヤ) Taga Tetsuya

東京医科歯科大学難治疾患研究所

幹細胞制御分野 教授

・研究領域

幹細胞生物学

腫瘍生物学

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学難治疾患研究所

幹細胞制御分野 田賀 哲也(タガ テツヤ)

梶 康一(タブ コウイチ)

TEL:03-5803-5814 FAX:03-5803-5814

E-mail: taga.scr@mri.tmd.ac.jp

k-tabu.scr@mri.tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp