

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:13-14.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 3) 骨髄由来血管内皮前駆細胞 (EPC)の制御による肺癌肺転移の制御

南 幸範

3) 骨髄由来血管内皮前駆細胞 (EPC) の制御による 肺癌肺転移の制御

研究代表者 南 幸範

【目的】

骨髄由来血管内皮前駆細胞 (EPC) は腫瘍の血管新生に重要な役割を果たしていることが報告されている。本研究は、この細胞の機能を制御することで腫瘍血管新生を抑制する、というがん治療に対する新たなアプローチを検証するものである。

我々の知見に基づき、以下のような仮説を立てた。

仮説 1 腫瘍の転移巣の形成・増殖において EPC の PGI₂-IP 系が重要な役割を担っている。

仮説 2 EPC の PGI₂-IP 系の活性化は、転移巣の抑制に有効である。

(PGI₂; プロスタサイクリン、IP 受容体; プロスタサイクリンの特異的な受容体)

上記の仮説を証明するために以下の目的を掲げた。

目的 1 腫瘍の転移における「IP 欠損による EPC 機能低下」の効果を明らかにする。

目的 2 EPC の機能及び腫瘍の転移におけるプロスタサイクリン誘導体とプロスタサイクリン受容体阻害薬の効果を明らかにする。

【方法】

【1】 骨髄移植ヌードマウスモデルの作成; 骨髄選択

的 IP 欠損マウスは、IP 欠損マウスの骨髄細胞を放射性照射済のヌードマウスに投与して作成した。

【2】 腫瘍肺転移モデルの作成と転移の定量; 骨髄移植したヌードマウスに肺癌細胞株を尾静脈より投与した。投与 3 週後に腫瘍組織の病理学的解析を行なった。

【3】 EPC の分離精製と細胞導入; 骨髄移植ドナー群 (wild および IP 欠損) マウス骨髄細胞から磁気細胞分離システム (MACS) を用いて、Lineage (-), cKit + /Sca1 + 細胞 (= EPC) を分離精製した。

【4】 腫瘍内血管新生度、EPC 同定と定量; 腫瘍組織片を免疫染色し評価した。外因性 EPC の腫瘍内での局在および量測定のため、導入細胞は GFP 過剰発現マウス由来の EPC を利用し、免疫組織解析した。

【5】 PGI₂ 誘導体 / 阻害薬投与実験; PGI₂ 誘導体 (beraprost) は作用時間が短いため、osmotic pump を用いて腫瘍細胞移植翌日から持続的に皮下投与 (1 ~ 6 μg/kg/day) した。IP 受容体阻害薬 (CAY 10441) は疎水性であり、安定性・利便性に問題があったため、前立腺癌のホルモン療法にも使用されている Poly Lactic-co-glycolytic acid (PLGA) で修飾することによりそれらの問題を解決した。PLGA で修飾することにより徐放性を持たせたため腫瘍細胞移植翌日のみ皮下投与 (1 ~ 20mg/kg) した。

【結果】

Wild type (WT) マウスに GFP を発現している WT マウスもしくは IP 欠損マウスの骨髄を移植し、それぞれに LLC/DsRed (DsRed で標識したマウスの肺癌細胞) を肺転移させて比較したところ、IP 欠損群では肉眼上も切片上も明らかに転移を認め、WT 群より転移巣は増加した (図 1)。EPC は腫瘍の周囲に存在し、その全てが周細胞のマーカーを発現しているわけではなかった。以上から骨髄選択的な IP 欠損マウスでは腫瘍肺転移モデルにおける腫瘍増殖・転移が促進された。

次に上記 IP 欠損群に wild EPC を導入したが、腫瘍増殖・転移の促進は解除されなかった (図 2)。

次に WT マウスに GFP を発現している WT マウスの骨髄を移植し、LLC/DsRed を肺転移させ、それぞれにプロスタサイクリン誘導体もしくはプロスタサイクリン受容体阻害薬を投与したところ、プロスタサイクリン

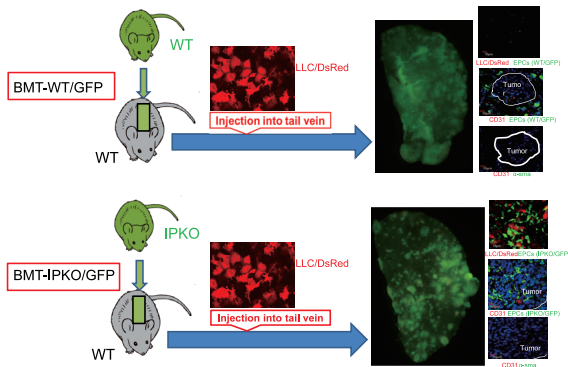


図 1

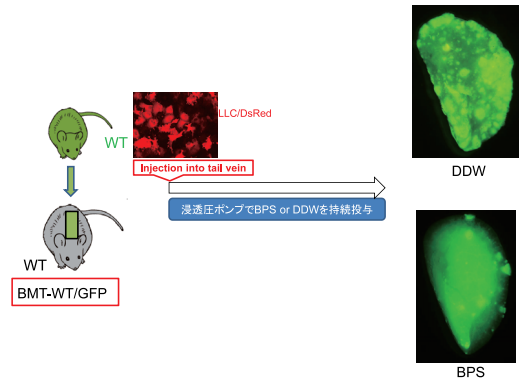


図 3

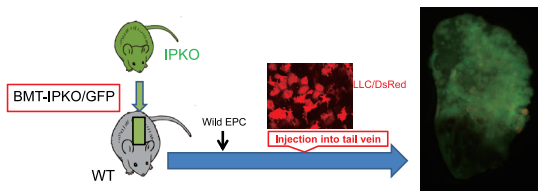


図 2

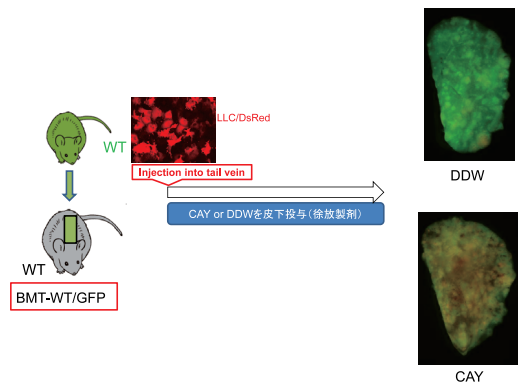


図 4

ン誘導体を投与した群は control と比較し、転移巣の大きさは小さくなり、その数も減少した (図 3)。一方、プロスタサイクリン受容体阻害薬を投与した群は control と比較し、転移巣の大きさは大きくなり、その数も増加した (図 4)。つまり、プロスタサイクリン誘導体は腫瘍転移モデルにおける腫瘍増殖・転移を抑制し、一方でプロスタサイクリン受容体阻害薬は同モデルにおける腫瘍増殖・転移を促進した。

【考 察】

以上の結果から、腫瘍の転移巣の形成・増殖において EPC の PGI₂-IP 系が重要な役割を担っており、EPC の PGI₂-IP 系の活性化は、転移巣の抑制に有効である可能性がある。骨髓選択的な IP 欠損マウスの腫瘍肺転移モデルに wild EPC を導入しても腫瘍増殖・転移の促進は解除されなかったが、その理由として次のことが考えられた。今回 wild EPC は肺癌細胞を尾静脈から投与する前日に 1 回だけ投与した。この前日の単回投与が十分な期間や量ではなかった可能性がある。また、EPC 以外の骨髓由来細胞の PGI₂-IP 系制御による効果ではないことを証明するには、IP 欠損 EPC を導入しても腫瘍増殖・転移の促進が解除されないことを示す必要があると考える。また、詳細な差をみるためには腫瘍血管構成細胞における EPC 数と腫瘍血管形成

度について検討する必要があると考えられる。

プロスタサイクリン誘導体は腫瘍転移モデルにおける腫瘍増殖・転移を抑制し、一方でプロスタサイクリン受容体阻害薬は同モデルにおける腫瘍増殖・転移を促進したが、プロスタサイクリン誘導体は末梢血に動員している EPC の機能を促進させ、一方でプロスタサイクリン受容体阻害薬は EPC の機能を抑制させている可能性があり、EPC の遊走や接着に関してのさらなる検討が必要と考えられる。さらに、骨髓以外の臓器の PGI₂ 制御による効果ではないことを確認するために、骨髓選択的な IP 欠損マウスで、プロスタサイクリン誘導体と受容体阻害薬による追加効果を認めないことを証明する必要があると考える。

【文 献】

- 1) Gao D, Nolan DJ, Mellick AS, et al. Endothelial Progenitor cells control the angiogenic switch in mouse lung metastasis. Science. 2008 Jan 11 ; 319 (5860) : 195-8.
- 2) Wickersheim A, Kerber M, de Miguel LS, et al.

Endothelial progenitor cells do not contribute to tumor endothelium in primary and metastatic tumors. *Int J Cancer*. 2009 Oct 15 ; 125 (8) :1771-7.

- 3) Kawabe J, Yuhki K, Okada M, et al. Prostaglandin I₂ promotes recruitment of endothelial progenitor cells and limits vascular remodeling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Mar ; 30 (3) :464-70. Epub 2009 Dec 10.