

腫瘍進展を正と負に制御する骨髄ニッチの実態解析と腫瘍抑制性骨再生療法の開発

安倍正博

徳島大学大学院医歯薬学研究部 血液・内分泌代謝内科学分野

【研究の背景】

多発性骨髄腫は、現在でもなお治癒がもたらされない難治腫瘍であるが、とりわけ骨に親和性を持ち、破骨細胞形成を促進するとともに骨芽細胞分化を強力に抑制し、骨破壊と腫瘍増殖をもたらす。TGF- β 阻害薬や LiCl は直接的な抗腫瘍活性は殆どないが、骨芽細胞分化を誘導し、このようにして誘導された成熟骨芽細胞は、その前駆細胞である骨髄間質細胞や破骨細胞が腫瘍増殖を促進させるのとは全く対照的に骨髄腫細胞にアポトーシスを惹起するという腫瘍抑制作用を発揮することが見出されている^{1,2)}。

【目 的】

骨髄を構成する各種細胞がもたらす骨髄腫腫瘍進展に及ぼす影響を解析し、腫瘍促進的あるいは抑制的細胞環境(ニッチ)やその細胞内シグナル系を解析する。そして、効率のよい骨形成誘導法を確立し、多発性骨髄腫の骨破壊病変部に骨再生と腫瘍抑制性のニッチを誘導するという新規治療戦略を開発する。

【方 法】

- 1) 単離骨髄間質細胞と単球から分化誘導した破骨細胞、および成熟骨芽細胞や脂肪細胞との共存下での、骨髄腫細胞の生細胞数や annexinV 陽性細胞数を評価するとともに、腫瘍細胞内で変動する因子やシグナル伝達系を探索し各培養条件間での比較検討を行う。成熟骨芽細胞は骨髄間質細胞や前骨芽細胞株 MC3T3-E1 を BMP-2 で、また成熟脂肪細胞は前駆脂肪細胞株(3T3-L1)をチアゾリジン誘導体ロシグリタゾンで分化誘導し用いる。
- 2) 前骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞による培養骨芽細胞分化誘導系を用い、骨芽細胞分化誘導活性を惹起する治療標的を同定し、効率よい骨芽細胞分化誘導をもたらす新規薬物療法を開発する。骨芽細胞分化誘導活性は、Runx2、Osterix や ATF4 などの転写因子の発現、alkaline phosphatase 活性や石灰化結節形成にて評価する。
- 3) 5TGM1 骨髄腫細胞株の脛骨内移植による骨破壊病変を形成するマウス骨髄腫モデルを用い、上記で見出した培養骨芽細胞分化誘導活性が強い薬剤の in vivo での骨芽細胞分化誘導法による骨再生と抗腫瘍作用を検討する。経時的な血中 M 蛋白濃度、 μ CT、病理組織、骨形態計測により腫瘍量と骨形成を評価する。

【結 果】

- 1) 骨髄腫骨微小環境の構成細胞である破骨細胞と骨髄間質細胞のいずれの共存によっても骨髄腫細胞で発現が亢進する因子として、Pim-2 キナーゼを同定した。Pim 阻害薬が骨髄腫細胞に細胞死を誘導することから、破骨細胞と骨髄間質細胞による骨髄腫細胞の生存・増殖の促進は Pim-2 の発現亢進に依存していることが判った。さらに、Pim-2 の発現誘導の上流シグナルの解析により、TAK-1 の関与を見出した。TAK-1 阻害薬(5Z)-7-oxozeaenol は、Pim-2 の発現を抑制し、Pim-2 阻害と同様に用量依存的に骨髄腫細胞株の増殖と生存を抑制した。
- 2) 酸性培地で骨髄腫細胞株を培養すると、Akt のリン酸化とともに Pim-2 キナーゼの発現が誘導された。酸性環境下では骨髄腫細胞の TDAG8、OGR1、TRPV1 などの pH センサーの発現が亢進した。PI3K 阻害薬 LY294002 の添加により、

酸性環境下での Akt のリン酸化の誘導が消失するとともに、これらの pH センサーの発現亢進も減弱した。これらの結果より、骨髄腫細胞は酸を感受し PI3K-Akt および Pim-2 を介する生存シグナル経路を活性化し、この活性化がさらに自らの pH センサーの発現を増強させるという悪循環を形成していることが示された。

- 3) 成熟骨芽細胞や成熟脂肪細胞との共培養により骨髄腫細胞の生存が抑制されるとともに AMPK の活性化が起こることを見出した。アディポネクチンなどが骨髄腫細胞に AMPK を介しアポトーシスを惹起する可能性が示唆されたが、成熟脂肪細胞による骨髄腫細胞の生存の抑制は、成熟骨芽細胞に比べ早く惹起されるものの一過性であり両細胞間での異なる分子機序があることが示された。
- 4) TAK-1 阻害は骨髄腫で過剰発現している各種骨形成抑制因子の下流シグナルを抑制し、強力な骨形成誘導をもたらすことが示された。さらに、TAK-1 阻害薬の骨髄腫動物モデルでの治療効果が示された。

【考 察】

骨系細胞はその種類や分化段階によって、骨髄腫の進展を正あるいは負に調節するという興味深い現象が明らかになった。また、多発性骨髄腫骨病変部では高度な酸性環境が形成されているが、酸が骨髄腫細胞に対しニッチ因子として作用していることも示された。破骨細胞や骨髄間質細胞が優勢な骨髄腫骨破壊病変部の腫瘍促進的な環境から、破骨細胞分化を抑制し骨髄間質細胞からの成熟骨芽細胞への分化を惹起させた腫瘍抑制性の細胞環境への形成誘導に、TAK-1 の阻害が有用であることが発見された。TAK-1 の阻害は Pim-2 経路を抑制するとともに腫瘍生存や骨芽細胞の分化抑制に関わる TGF- β などのシグナル経路をも抑制することが可能であり、TAK-1 抑制は強力な骨破壊防止・骨再生誘導活性を備えた新規の抗骨髄腫治療戦略になることが予想される。また、正常細胞の TAK-1 の発現はごくわずかであるため、TAK-1 阻害は安全で副作用の少ない治療法と考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

TAK-1 を標的とすることにより、新規の機序で腫瘍抑制を図りつつ、骨喪失部に骨再生を回復させ、腫瘍抑制性のニッチを誘導するという画期的な治療法の開発に繋がると考えられ臨床的意義は大きい。

【参考・引用文献】

- 1) Takeuchi K, et al. **PLoS One**. 5: e9870, 2010.
- 2) Abe M, et al. **Blood** 104:2484-2491, 2004.