

# 正常幹細胞研究をベースに癌幹細胞に迫る

横浜市で開かれた第66回日本癌学会(会長=助産研究会癌化学療法センター・鶴尾隆所長)のシンポジウム「Stem Cell in Cancer Research」(座長=理化学研究所発生・再生科学総合研究センター・西川伸一)副センター長、慶應義塾大学発生・分化生物学講座・須田正生教授)は、同学会で最も注目度の高かったシンポジウムの1つである。急速な展開を見せている正常幹細胞研究を足がかりとして、正常幹細胞と癌幹細胞の共通性や分化制御、癌細胞のオリジン換発などを巡る密度の高い研究を通して、癌幹細胞の本体に迫ろうとする研究の現状と成果が報告された。そのなかから、2つの発表を紹介する。

## 動く幹細胞の研究から 癌幹細胞ニッチ制御を提唱

造血幹細胞は、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の投与によって、それ自身を取らぬ微小環境であるニッチ(niche)を離れ、末梢血中へ移動することが知られている。神戸大学病院血液内科の片山義雄氏は、この現象の一端を解明し、そこが交感神経によるニッチの抑制がかかることを示した。

### 交感神経が 造血幹細胞ニッチを抑制

G-CSF刺激によって造血幹細胞が末梢血に大量に流出する現象は「動員」と呼ばれ、これを利用した末梢血幹細胞移植が臨床の場で汎用されている。しかし、その機序は不明だ。

片山氏がまず着目したのは、フコイダン(fucoidan)という海草に含まれる硫酸化した多糖。マウスに与えると、造血幹細胞の速やかな動員が起きる。フコイタンは哺乳類の体内には存在しないことから、G-CSF投与で動くフコイタン類似物質を検索。神経エンリッチの脂質成分であるスルファチド(sulfatide)がcounterpartとして注目された。スルファチドとその前駆体ガラクトシルセラミドは、ガラクトース転移酵素Cgt欠損マウスでは完全に欠損しており、G-CSF投与による造血幹細胞動員も生じないことが観察された。

造血幹細胞を骨髄内にたぎらわめている重要な因子はケモカインのCXCL12である。その抗体あるいは

CXCL12の受容体CXCR4のアンタゴニスト投与で造血幹細胞の動員が起きる。すなわち造血幹細胞の動員はCXCL12の抑制に関連することが示唆された。同氏は、CXCL12が骨組織に蓄積していること、G-CSF投与によって正常マウスでは骨内のCXCL12が減少するが、Cgt欠損マウスでは変化しないことを確認した。

2003年には造血幹細胞ニッチの本体が骨芽細胞であることが報告。また、レプシン抑制に動くシグナルとして、レプチンを介した交感神経刺激が報告された。同氏はこの交感神経経路とCXCL12の関連を検討し、G-CSFが骨髄内の交感神経を興奮させて、カテコールアミンなどの神経伝達物質を放出して骨芽細胞を抑制し、それによってCXCL12の産生を抑制し、造血幹細胞のニッチからの動員を促すことを示唆する結果を得た。

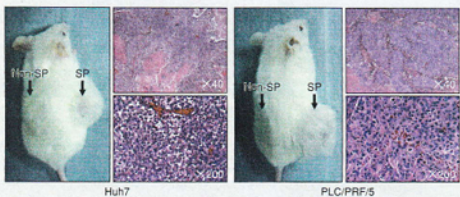
同氏は「造血幹細胞ニッチは、交感神経系による制御を受けてニッチとしての役割を果たせなくなり、その結果、造血幹細胞の動員が起きると考えられる。癌細胞にはそれをサポートする細胞が必要で、それらは正常細胞から調達されることが最近明らかになってきた。癌治療では、サポート集団あるいはニッチから癌幹細胞を引きはがすことがきわめて重要と考えられるが、われわれの研究はなんとそのヒントになるかもしれない」と述べた。

## 肝幹細胞の過剰な自己複製が 癌発症を駆動

正常幹細胞と癌幹細胞は、分化、増殖、自己複製にかかわるバクサイエのなんらかの部分と共有しているのではないかと考えられている。横

浜市立大学大学院臓器再生医学の谷口英樹教授は、幹細胞を特定する手法の1つであるSP(site population)細胞分離法をヒト肝臓細胞に適用

(図) ヒト肝臓細胞由来SP(non-SP細胞)の腫瘍形成能の解析(6~10週齢のNOD/SCIDマウスへ各1×10<sup>6</sup>細胞移植後16週)



SP: site population, Huh7, PLC/PRF/5: ヒト肝臓細胞株

し、腫瘍形成能を有する癌幹細胞の存在を確認した。また、正常の肝幹細胞に自己複製の異常を引き起こすようにWnt/ $\beta$ カテニン( $\beta$ -Catenin)あるいはポリコム群蛋白質(Bmi1)を過剰発現させると、いずれの場合においても肝臓細胞と胆管癌の性質を併せ持つ肝癌が発症することを確認した。

### Wnt/ $\beta$ カテニン, Bmi1過剰発現 で正常幹細胞から肝癌を誘導

SP細胞はDNA結合色素ヘキスト(hoechst)の排出能が高い細胞集団で、この細胞集団中に幹細胞が存在することが知られている。谷口教授らはヒト肝臓細胞株Huh7とPLC/PRF/5で、SP細胞フラクションがそれぞれ0.25%、0.8%含まれることをFACS(flourescence-activated cell sorting)で確認した。SP細胞とnon-SP細胞の分化マーカー発現を見ると、SP細胞はいずれの細胞株も肝臓癌のマーカーAFPと胆管癌のマーカーCK7陽性だが、non-SP細胞ではいずれか一方のみを発現している細胞が多かった。

次に、肝臓癌細胞株から同定したSP細胞とnon-SP細胞を、NOD/SCIDマウスの両側背部に移植したところ、SP細胞移植体のみで腫瘍が形成された(図)。腫瘍形成に必要な最小SP細胞数は約500個。non-SP細胞は10万個の細胞を移植しても腫瘍形成は認められなかった。さらに、最初の移植で生じた腫瘍から分離したSP細胞をNOD/SCIDマウスに二次移植したところ、最初のSP細胞腫瘍と同様の結果が得られ、SP細胞が腫瘍のなかで一定数維持され、その機能を保

っていることが示唆された。

SP細胞とnon-SP細胞でオーバーラップする遺伝子の有無を検索すると、共通のものが出たが、そのなかには複数のStemness geneが含まれていた。現在判明している主要なStemness geneとしては、Wnt/ $\beta$ カテニン、Shh、Notch、Bmi1などが認知されており、肝臓では特に $\beta$ -CateninとBmi1の異常が報告されている。そこでFACSで分離した正常肝幹細胞に、この2つの遺伝子をそれぞれ過剰発現させた。その結果、いずれの場合でもコントロールの培養系で見られる単層のシート構造は完全に崩れ、細胞極性に異常が生じていることが示唆された。この細胞をNOD/SCIDマウスに移植すると、アルブミン陽性の肝臓癌とCK7陽性の胆管癌の性質を併せ持った腫瘍が形成された。

「臨床的にはこれはcombined hepatocellular and cholangio carcinomaという特殊な肝癌の病理組織学に類似している(金沢大学ががん細胞学の中沼安二教授との共同研究)。この腫瘍は従来から幹細胞由来ではないかと疑われていたものだ。今回の検討から、正常幹細胞のみでも持っている性質である自己複製制御機構の異常により、腫瘍が形成されることが明確に示された。

同教授は正常幹細胞と癌幹細胞はおそらくかなり近い性質を持つ細胞であり、相対に共通した機構でそれぞれ機能を補完しあっていることと推測される。今後、両者の何が共通で何が違うのかについて、遺伝子レベルで明らかにしていくことが癌幹細胞に対する分子標的治療を開発するうえできわめて重要だ」と述べた。

## 慢性腎疾患の患者でも 肥満とPTH値が相関

(米オハイオ州クリーブランド) セニアムイオウ局医療センター(バーナム州セーラ)腎臓病学のCsaba P. Kovcsy博士らは、慢性腎疾患患者でも腎機能正常者と同様に肥満に伴い副甲状腺ホルモン(PTH)値が上昇することを確認したとClinical Journal of the American Society of Nephrology(2007;オンライン版)に発表した。同博士は「PTH値の上昇は重大な合併症で、心疾患や死亡に結び付くため注意を要する」と指摘している。

### 減量でホルモン抑制的腎機能

Kovcsy博士によると、腎機能正常者では、肥満がビタミンD代謝障害とPTH値の上昇を引き起こすことが既に知られているが、慢性腎疾患患者を対象に検討した報告はなかった。同博士は「慢性腎疾患患者において、肥満と甲状線機能亢進症はいずれも非常に深刻な問題で、両者の関係の解明は治療と予後改善に重要である」と述べている。

同博士らは、中等度~重度の慢性

腎疾患で、まだ透析を開始していない退役軍人496例のカルチを調べ、体重とPTHレベルの相関を検討した。その結果、body mass index(BMI)の上昇に伴いPTH値も上昇することが確認され、これらに相関には年齢、性別、糖尿病の有無など他の因子は関係していないこともわかった。炎症と栄養不良はいずれも慢性腎疾患予後不良の予後因子であるが、これらの徴候が認められる患者では、肥満とPTH値上昇との相関が顕著であった。

同博士は「今回の知見は、慢性腎疾患患者に限定されるものかもしれないが、肥満患者におけるPTH値上昇の原因を解明する手がかりとなる。また、慢性腎疾患において栄養不良と炎症が主要な予後不良因子であることを考えると、予後改善の観点からも重要と言えるだろう」と述べ、「慢性腎疾患患者では体重減少がPTH分泌の低下に有用であるかもしれないし、逆に甲状線機能亢進症の治療が体重減少に結び付くかもしれない」と付け加えている。