

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がん微小環境を標的とした革新的治療法の実現」（骨髄微小環境内での、ケモカインを介する細胞競合を標的とした治療法の開発）
2. 研究開発代表者： 向田直史（国立大学法人金沢大学・がん進展制御研究所）
3. 研究開発の成果

骨髄を主病変とする慢性骨髄性白血病（CML）ならびに乳がんの骨転移過程を、主にマウス・モデルを用いて解析して、本年度は以下の結果を得た。

1) CML

ヒト CML 患者で認められる好塩基球増多が、Bcr-Abl 遺伝子導入した骨髄幹／前駆細胞を放射線非照射のヌードマウスの骨髄内に投与して生じる慢性骨髄性白血病（CML）モデルの骨髄内でも認められた。増加していた好塩基球様細胞は白血病細胞由来である上に、恒常的に CCL3 を産生していた。同様に、ヒト CML 患者の骨髄内においても、好塩基球様細胞が CCL3 タンパクを発現していた。さらに、上記のモデルにおいて、好塩基球の除去や CCR5 阻害剤であるマラビロック投与をすることによって、CML の白血病幹細胞の数が著減して、CML の発症が予防された。

2) 乳がん骨転移

昨年度までに、マウス乳がん細胞株 4T1 細胞株から、乳腺脂肪組織に接種することで、骨に自然転移するクローン 4T1.3 株を樹立した。原発巣（乳腺脂肪組織）での増殖能・転移先臓器への浸潤能については、親株と比較して 4T1.3 株は大きな差異を認めない一方で、骨内腔に直接接種した時、4T1.3 株は親株に比べて高い腫瘍形成能を認めた。このような差異の原因として、4T1.3 株において CCL4 発現の亢進が関与している可能性を示唆する結果を昨年度までに得た。今年度、骨内腔に 4T1.3 株を接種した時には、親株接種時に比べて、骨内での骨芽細胞・破骨細胞数には大きな差異は認められないのに対し、線維芽細胞数が増加していることを新たに明らかにした。shRNA 処理で CCL4 発現を低下させた 4T1.3 株の骨内接種時、CCR5 欠損マウスあるいはあらかじめ CCR5 阻害因子発現ベクターを接種したマウスの骨内への 4T1.3 株の接種時には、骨内の線維芽細胞の増加が軽減されるとともに骨内腫瘍形成も軽減された。細胞培養条件下で、骨髄内で認められると同様の低酸素状態において 4T1.3 株に対して増殖促進活性を示す結合組織増殖因子（CTGF）が、骨内で増加した線維芽細胞によって産生されていた。さらに、細胞培養条件下で CCL4 が線維芽細胞の増殖と CTGF 産生を誘導することを明らかにした。

本研究開発期間を通して、以下の点が明らかとなった。

1) CML

昨年度までに、正常骨髄において、好塩基球がケモカイン CCL3 を恒常的に産生していて、CCL3 レセプターである CCR1 あるいは CCR5 を発現している造血細胞に対して抑制的に作用して、骨髄移植時における造血細胞の過剰増殖を抑制することが明らかとしている。これらの点と今年度の成果を考えると、好塩基球が産生する CCL3 が CML の骨髄に残存している正常造血細胞の増殖を抑制することで、CML 細胞の増殖に有利な環境を形成している可能性が示唆された。さらに、好塩基球あるいは CCL3 を標的とした、CML の新たな治療戦略の可能性も示唆された。

2) 乳がんの骨転移

乳がん細胞が産生する CCL4 が線維芽細胞による CTGF 産生を誘導し、産生された CTGF が骨内でのがん細胞の増殖を促進する可能性が示唆された。さらに CCL4 や骨内線維芽細胞が乳がんの骨転移に対する新たな治療標的となりうる可能性も示唆された。