

【第94回生涯教育講座】

がん幹細胞を標的とするがん治療戦略

ほん ま よし お
本 間 良 夫

キーワード：がん幹細胞, がん治療, 分化誘導療法

はじめに

がん細胞は、細胞の不死化（細胞分裂を制限なく繰り返せる）、周辺組織への浸潤、体内の離れた部位への転移、という特徴を持っている。しかし、がん組織を構成しているがん細胞のすべてがこれらの特徴を兼ね備えているわけではない。これらの特徴を持ち、がんを生じさせる能力（造腫瘍能）があるものは、全体のごく一部である。これらの一部のがん細胞は、(1)自らと全く同じ細胞を作り出す自己複製能と、(2)多種類の細胞に分化しうる多分化能という、組織中に存在する正常の幹細胞（stem cell）に共通して見られる特徴を持っている。がん組織中で自己複製により自分と同じ細胞を維持しながら、分化によって周辺の大多数のがん細胞を生み出すもとになっていると考えられる。これらの一部のがん細胞をがん幹細胞（cancer stem cell, CSC）と呼び、がんがこの幹細胞様の細胞から発生・進行するという仮説が提唱されている（図1）。1997年に急性骨髄性白血病で、CSCの存在が証明された。その後、CD133等の幹細胞マーカーを発現しているCSCが乳癌、脳腫瘍、大腸癌等で発見された。CSCが仮説に

過ぎないとの考えは以下の理由による。CSCを頂点とした階層があるとした場合最下層に位置するのは分化したがん細胞であるが、この細胞が先祖帰りをしてがん幹細胞化することが知られている^{1,2)}。がん細胞の不均一性の一環として考えて、ある一定の割合で自己再生能力の強い細胞集団を

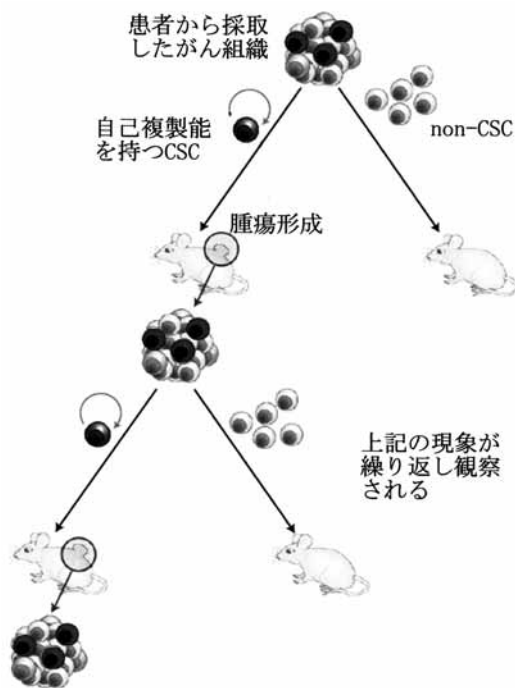


図1 がん幹細胞（CSC）と腫瘍形成

がん組織は、少数のCSCと多数の腫瘍を形成する能力（自己複製能）を喪失しているnon-CSCから成り立っている。少数のCSCをNOD/SCID免疫不全マウスに移植すると患者から採取したがん組織と良く似た腫瘍を形成する。しかし多数のnon-CSCをマウスに移植しても腫瘍は形成されない。これは繰り返しても同様の現象が再現される。

Yoshio HONMA

島根大学医学部腫瘍生物学

連絡先：〒693-8501 出雲市塩冶町89-1

残すようにするシステムがあるだけで、きちんとした階層性があるわけではないとみなすことも可能である。

正常の幹細胞は体を構成する様々な細胞の供給源であるから、幹細胞がなくなると生命そのものが脅かされる。正常の幹細胞はあらゆる攻撃を排除する仕組みを自ら備えている。CSCにも同じ仕組みが備わっていて自らを守るため、抗がん剤が効き難い。これががん再発の主な原因であると考えられている。一般的な抗がん剤による治療では固形腫瘍の縮小が治療の指針とされており、抗がん剤は腫瘍の大部分を占める分化した(stemnessを失った)がん細胞だけを標的としているとの考えもある。CSCは薬剤耐性を獲得しているので、治療によって大部分のがん細胞を除いても、ごく少数のCSCは生き残って、がんの再発が起こることになる。CSCを標的として効率よく除去できれば、がんの再発防止になると期待される。しかし、CSCは正常の幹細胞と似た性質を持っていることから、CSCを特異的に死滅させる治療をしたら、必要な正常幹細胞も死滅させる恐れがある。CSCに特異的であるか、または正常の幹細胞に著しい損傷を与えない治療戦略を構築する必要がある。われわれの最新の結果を示すとともに、最新のCSCを標的とする治療戦略についての研究を概説したい。

1 CSCの同定に用いるマーカーの治療標的としての可能性

CSCの同定および単離は細胞表面抗原の差異で行なえる。表1で示すように、多くのがん種のCSCに共通して強く発現する表面抗原と組織特異的な表面マーカーに分けられる。しかし正常細胞にも広く発現しているものが多いので、分子標

表1 がん幹細胞の同定に用いられる主な細胞表面マーカー

マーカー	正常組織での発現	がん幹細胞での発現
CD19	B細胞	B細胞由来の腫瘍
CD20	B細胞	メラノーマ
CD24	B細胞、神経芽細胞	膵臓癌、肺癌では陽性 乳癌では陰性
CD34	血液と血管内皮細胞の幹・前駆細胞	造血器腫瘍
CD44	多くの組織	乳癌、肝臓癌、膵臓癌、頭頸部癌
CD133	多くの組織の増殖細胞	脳腫瘍、大腸癌、肺癌、肝臓癌
EpCAM/ESA	上皮組織に広範に	大腸癌、膵臓癌

的としては使用し難い。またCSC全部に共通して認められる表面マーカーというものはなく、CD24は膵臓癌のCSCにおいては発現しているが、乳癌ではCD24発現細胞はCSC活性を持たず、逆に陰性細胞にCSC活性が認められる。CSC特有の表面マーカーとstemnessとの関連性を示す事実はない。つまり経験的にこれらのマーカーを使って選別すると、たまたま少数存在するCSCを濃縮出来るだけである。代謝活性を指標にしたマーカーとしては、アルデヒド脱水素酵素(ALDH1)が知られている。さらにはヘキスト色素の排出能を指標にしたside population法もある。以上のCSCの特性は同定に使えても、治療の分子標的にはなり難い。

2 CSC特有の遺伝子発現解析による分子標的の探索

マイクロアレーを用いて遺伝子発現を網羅的に

調べ、正常の幹細胞と CSC との間の遺伝子発現の差異から CSC に特異な標的を見出そうという研究がなされた。10名の慢性骨髄性白血病 (CML) 患者からの CD34 陽性白血病細胞と6名の健康人からの CD34 陽性骨髄細胞との間で遺伝子発現パターンを比較した。その結果、CML の CSC において IL-1 receptor accessory protein (IL1RAP) の発現が有意に増加していることが判明した。この遺伝子産物は細胞表面に発現していることから、特異的な抗体療法が有用である可能性が考えられた。IL1RAP 抗体は、正常の血液幹細胞やほかの白血病細胞には殺細胞効果を示さなかったが、CML の CD34⁺CD38⁻ の CSC に対してのみ殺細胞効果を示した³⁾。

非小細胞肺癌の CSC では、増殖因子 stem cell factor (SCF) とその受容体 c-kit receptor の発現の著しい亢進が認められたことから、このシグナル伝達経路が CSC の stemness の維持に重要な役割を果たしていると考え、この伝達経路の阻害剤である imatinib をシスプラチンと併用を試みた。シスプラチン単独の処理では、肺癌細胞の増殖を最初はよく抑制したがその後未処理の細胞

と同程度の増殖能を回復させた。Imatinib 単独では顕著な抑制効果を示さなかったが、シスプラチンとの併用することにより増殖能を回復させる肺癌細胞は出現しなかった⁴⁾。以上の結果は、CSC が大きく依存しているシグナル伝達経路を遮断する事により CSC を標的とする治療法が有望であることを示唆している。

3 抗腫瘍活性を持つ化合物のがん幹細胞選択性の解明

現在までに、抗腫瘍活性をもつ多種多様の化合物が報告されている。その作用機序を解明している過程で、がん幹細胞に対し選択的に作用することが判明したものもある。赤ワインに多く含まれるポリフェノールの一種 resveratrol (図2) は stemness の維持に必要な遺伝子群 (Nanog, Sox-2, c-Myc, Oct-4) の発現を抑制し、膵臓癌 CSC の自己再生能を抑制した。この物質の抗腫瘍活性の少なくとも一部は、CSC の特性を抑制することに起因すると考えられた⁵⁾。副作用も認められないことから今後の研究の発展が望まれる。

Metformin (図2) は糖尿病の治療薬として

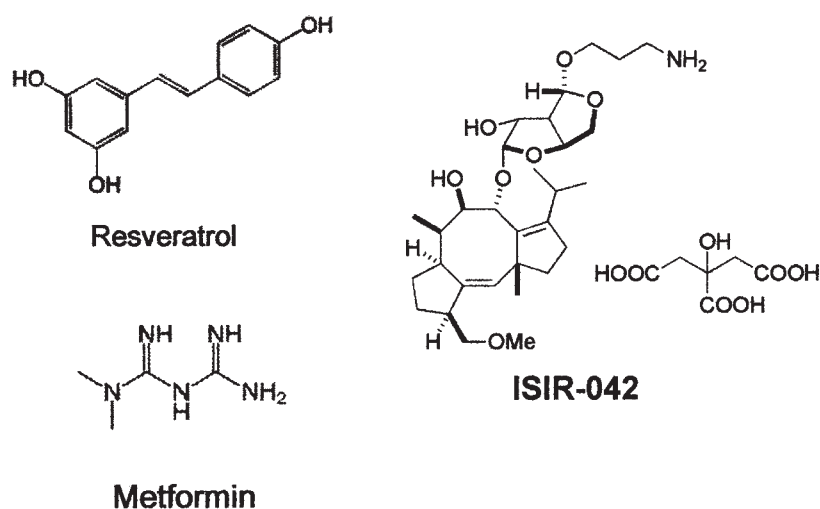


図2 CSC に選択的に作用する抗腫瘍活性物質

用いられているが、この治療を受けている患者ではがんになる危険性が低下するという疫学的研究を基にして metformin の抗腫瘍活性の詳細な研究が開始された。Metformin 単独では、乳癌細胞の増殖を効果的には抑制できないが、tamoxifen や doxorubicin による増殖抑制やアポトーシスを顕著に促進した。また CSC の mammosphere 形成 (CSC の増殖) に対しては metformin が単独で効果的に抑制した。さらに動物モデルにおいて metformin は乳癌だけでなく肺癌や前立腺癌においても化学療法剤との併用で効果的に癌の再発を抑制した⁶⁾。Metformin はすでに臨床で用いられている薬剤であり深刻な副作用もないので、今後の臨床試験に期待したい。

男性では、ミューラー管はその発生の過程で退縮する。それを誘導する物質として Müllerian inhibiting substance (MIS) が知られている。婦人科癌では、MIS が特異的に抗腫瘍効果を示すことが報告されていた。その作用機構を解明する過程で、MIS が選択的に CSC の増殖を抑制することを明らかにされた⁷⁾。MIS に特異的な受容体が発現している腫瘍に対しては効果的な治療となる可能性がある。

われわれは、がん細胞に特異的に作用し毒性の少ない抗がん剤の開発研究を続けてきている⁸⁾。微生物が産生する fusicoicin から強い抗腫瘍活性を示す誘導体 (図2) を合成した。通常の抗がん剤は低酸素条件下では効果が低下するものが多いが、この化合物 (ISIR-042) は低酸素条件下においてより効果的に作用するというユニークな活性を持っている。CSC は低酸素下で維持されているので、ISIR-042はがん幹細胞に選択的に作用するのではと予想し、膵臓癌細胞に gemcitabine (膵臓癌に対する第一選択薬) と ISIR-042を処理

して残存した細胞の表面抗原を解析した。Gemcitabine 処理により CSC のマーカーである CD24・CD44ともに陽性の細胞の割合が増加した。一方、ISIR-42処理では CD24・CD44 ともに陽性の細胞は顕著に減少した。つまり gemcitabine は non-CSC を選択的に低下させるのに対し、ISIR-42は CSC に対し選択的に作用した。この薬剤は正常細胞の増殖にはほとんど影響なく、がん細胞に選択的に作用した。さらに ISIR-042と gemcitabine の併用は顕著な副作用もなく相乗的に抗腫瘍効果を示した。

ここで示した薬剤はすべて細胞毒性が低いけれど抗腫瘍活性を有している。今までの抗がん剤の開発はより殺細胞効果の強い薬剤を求めてきた。ある程度の効果は得られたが、CSC を残存させてしまうので再発を招き、完治まで到達させるのは困難である。一方、CSC の stemness を標的とする薬剤は、治療に時間はかかるが理論的には再発を防止できるはずである。しかし前述したように、stemness を消失した non-CSC から CSC に移行することが報告されているので^{1,2)}、CSC を標的とする治療をして CSC を消滅させても大量の non-CSC を残しておくとも再び CSC が作り出される可能性がある。したがって、殺細胞効果の強い抗がん剤と CSC を標的とする薬剤との併用がより良いと考えられる (図3)。

4. がん幹細胞分化誘導療法

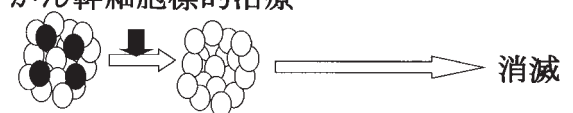
がん細胞といえども正常細胞に分化することについては、すでに多くの報告がある。とくに白血病においては、分化誘導療法が標準治療に取り入れられている⁹⁾。固形腫瘍においても、in vitro で多くのがん細胞が分化誘導剤の処理により正常細胞の持つ形質を発現することが明らかにされて

いる^{8,9)}。膠芽腫 (glioblastoma) 細胞が正常のグリア細胞やアストロサイトに分化するのは以前から良く知られていたが、最近の研究は glioblastoma の CSC が血管内皮細胞に分化して血管新生を促進して、がんの増悪を推進しているという¹⁰⁾。低酸素下のがん組織においては血管新生を促進するシグナルが盛んに産生されているので、幹細胞が血管内皮細胞に分化しやすい環境下にあると推察される。Bone morphogenetic protein (BMP) が患者から採取した glioblastoma 細胞を正常の astroglial 細胞に分化させ腫瘍性を低下させることが示された。BMP は細胞毒性を示さず、CSC を分化させて non-CSC に変えることにより治療効果を発揮させた¹¹⁾。ここに新しい治療戦略として、CSC を分化させる分化誘導療法を提唱することが可能となった (図4)⁸⁾。BMP は、その名の由来である骨形成にとどまらず、初期発生に始まりその後のほとんど全ての器官形成に関与していることが明らかになっている。TGF-βファミリーに属するタンパク質で少なくとも15種類以上ある。とくに BMP シグナル伝達機構の欠失は大腸癌の原因となる。Glioblastoma だけでなく、大腸癌細胞に対しても BMP は CSC の分化を誘導し抗がん剤に対する感受性を増大させた¹²⁾。TGF-βファミリーに属するタンパク質の BMP を治療薬とするのは容易ではないが、最近の研究は血中のコレステロールを低下させる薬剤であるスタチンが BMP を細胞内に誘導し、大腸癌細胞の分化を誘導し CSC を non-CSC に変えることが可能であることを示した¹³⁾。さらに、急性前骨髄球性白血病の分化誘導療法に用いる *all-trans* retinoic acid でも同様に glioma 細胞の CSC を分化させることが明らかにされた¹⁴⁾。以上の結果は、安全に今すぐにも使用できる薬剤で

一般的抗がん剤による治療



がん幹細胞標的治療



併用療法



● がん幹細胞
○ stemnessを消失したがん細胞
↓ 治療

図3 がん治療戦略

一般的な抗がん剤治療では、腫瘍サイズは縮小できるが CSC が残存するため再発が起こる。CSC に選択的に作用する薬剤で CSC を除去しても腫瘍サイズの減少は軽微である。しかし non-CSC は自己増殖能に限りがあるので、理論的には時間がかかるが腫瘍は消滅するはずである。実際は non-CSC から CSC が形成される可能性があるため、CSC を標的とする薬剤の治療だけで効果的に完治できるとは限らない。抗がん剤と CSC 標的治療薬を併用することで、腫瘍の縮小と CSC の根絶を目指し治療をおこなうのが望ましい。

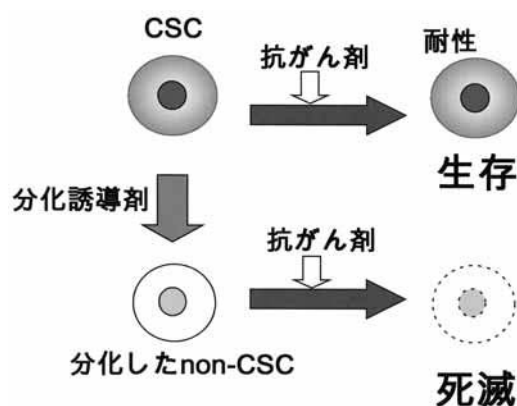


図4 分化誘導剤と抗がん剤の併用療法

薬剤耐性のがん幹細胞 (CSC) を分化誘導剤で stemness を消失した non-CSC に分化させる。この細胞は薬剤に感受性を示すようになるので、抗がん剤処理により死滅する。この結果、がんを制御することが可能となる。分化誘導剤の処理だけでは non-CSC になるがすぐには死なないので、分化誘導剤が除かれると non-CSC はふたたび CSC に戻ることもあるし、また分化誘導剤が存在していても non-CSC の中の一部が CSC になる可能性もある。

CSC を分化した non-CSC に変え造腫瘍性を低下させ、抗がん剤に対する感受性を増大させられることを示唆した。多くのがんでの同様の研究において今後のさらなる進展が望まれる。

おわりに

完全に分化成熟した皮膚の線維芽細胞が受精卵と同様に全能性を有する幹細胞 (induced pluripotent stem cell, iPS 細胞) に転換できることから、細胞の可塑性は無限のように思える。がん細胞が正常細胞に変わることも常識になってきたし、stemness を喪失したがん細胞が再び

stemness を獲得することも証明されている。ダイナミックにその性質を変えることの出来るがん細胞を完全にコントロールするのに一つの方法では難しいことは当然であろう。がん細胞が周囲の正常細胞に働きかけて自分の生存に協力させているメカニズムも徐々に判明してきた。血管新生や腫瘍組織内の血液細胞・間質系細胞のサポートを絶つような治療法も併用しながら、CSC 標的薬とともに抗がん剤を用いるような多面的にがん細胞をコントロールすることで完治が望めるようになるだろう。このような治療戦略が臨床の場で早く現実のものとなるのを期待したい。

文 献

- 1) Iliopoulos D, Hirsh HA, Wang G, Struhl K. Inducible formation of breast cancer stem cells and their dynamic equilibrium with non-stem cancer cells via IL6 secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 1397-402, 2011.
- 2) Chaffer CL, Brueckmann I, Scheel C, et al. Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 7950-5, 2011
- 3) Järås M, Johnels P, Hansen N, et al. Isolation and killing of candidate chronic myeloid leukemia stem cells by antibody targeting of IL-1 receptor accessory protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 16280-5, 2010
- 4) Levina V, Marrangoni A, Wang T, et al. Elimination of human lung cancer stem cells through targeting of the stem cell factor-c-kit autocrine signaling loop. *Cancer Res* 70: 338-46, 2010.
- 5) Shankar S, Nall D, Tang S, et al. Resveratrol inhibits pancreatic cancer stem cell characteristics in human and k-ras^{G12D} transgenic mice by inhibiting pluripotency maintaining factors and epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 6(1): e16530, 2011.
- 6) Hirsh HA, Iliopoulos D, Tsihchlis PN, Struhl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission. *Cancer Res* 69: 7507-11, 2009.
- 7) Wei X, Dombkowski D, Meirelles K, et al. Müllerian inhibiting substance preferentially inhibits stem/progenitors in human ovarian cancer cell lines compared with chemotherapeutics. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 18874-9, 2010.
- 8) Honma Y, Akimoto M. Therapeutic strategy using phenotypic modulation of cancer cells by differentiation-inducing agents. *Cancer Sci* 98: 1643-1651, 2007.
- 9) Bussard KM, Boulanger CA, Booth BW, et al. Reprogramming human cancer cells in the mouse mammary gland. *Cancer Res* 70: 6336-43, 2010.
- 10) Bauth VL. Tumour stem cells switch sides. *Nature* 468: 770-1, 2010.
- 11) Piccirillo SGM, Reynold BA, Zanetti N, et al. Bone morphogenetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumour-initiating cells. *Nature* 2006; 444: 761-5.
- 12) Lombardo Y, Scopelliti A, Cammareri P, et al. Bone morphogenetic protein 4 induces differentiation of colorectal cancer stem cells and increases their response to chemotherapy in mice. *Gastroenterology* 140: 297-

309, 2001.

13) Kodach LL, Jacobs RJ, Voorneveld PW, et al. Statins augment the chemosensitivity of colorectal cancer cells inducing epigenetic reprogramming and reducing colorectal cancer cell stemness via the

bone morphogenetic protein pathway. *Gut* 237495, 2011.

14) Campos B, Wan F, Farhabi M, et al. Differentiation therapy exerts antitumor effects on stem-like glioma cells. *Clin Cancer Res* 16: 2715-28, 2010.