

微小管阻害薬暴露後のがん微小環境が、肺扁平上皮がんの悪性度に与える影響

47-186344 がん先端生命科学分野

BATTUGS OCHIRDARI

【背景・目的】

がん組織は、がん細胞のみならず、免疫担当細胞や線維芽細胞（Cancer associated fibroblast; CAFs）などの非がん細胞から構成される。非がん細胞の中で、CAFs が最も割合が高く、がん細胞の治療抵抗性や浸潤・転移によるがんの進展に寄与することが多数報告されてきた。そのため、がん細胞に対する治療を考案する上で、CAFs とがん細胞の相互作用を詳細に理解することは、大変重要である。罹患率が高いがん種の一つである肺がんの中で、非小細胞肺がんは、8割を占めており、その治療として微小管阻害薬がしばしば用いられる。微小管阻害薬は、細胞分裂時に微小管を安定化することで細胞分裂を停止する抗がん剤である。しかし、微小管阻害薬投与後にはがん細胞が核内倍加により多核化し、化学療法への耐性を示すことが報告されている。抗がん剤暴露により、がん細胞のみならず、CAFs も影響を受ける。したがって、抗がん剤暴露後のがん微小環境の生物像を考える上で、CAFs も考慮すべきである。本研究では、肺扁平上皮癌患者から採集した CAFs を用いて、抗がん剤暴露後の CAFs が、抗がん剤暴露後のがん細胞の再増殖、遊走能、足場非依存性増殖（sphere 形成）などの個々の悪性度に与える影響について、分子機構まで解明することを目的とした。

キーワード： がん微小環境、CAFs、docetaxel

【方法】

- (1) RERF-LC-AI 細胞の docetaxel 除去後の再増殖抑制を検討した。
- (2) Docetaxel による CAFs の増殖抑制について検討した。
- (3) Docetaxel 処理/非処理 CAFs による docetaxel 処理/非処理 RERF-LC-AI 細胞の再増殖/増殖を検討した。
- (4) Docetaxel 処理/非処理 CAFs による docetaxel 処理/非処理 RERF-LC-AI 細胞の遊走能を検討した。
- (5) Docetaxel 処理 CAFs による docetaxel 処理 RERF-LC-AI 細胞の sphere 形成に与える影響を検討した。
- (6) Docetaxel 非処理 CAFs による docetaxel 非処理 RERF-LC-AI 細胞の sphere 形成に与える影響を検討した。

【結果・考察】

- (1) Docetaxel 前処理 RERF-LC-AI 細胞の再増殖
がん細胞を 0.0032nM~10nM の docetaxel で 3 日間処理した結果、0.4nM 以上の場合がん細胞の増殖を有意に抑制した。次に、docetaxel 除去後のがん細胞の再増殖を測定した(図 1)。がん細胞の再増殖検討に適切な docetaxel 濃度として 0.4nM を選択した。

- (2) Docetaxel による CAFs の増殖抑制

Docetaxel による CAFs の増殖抑制を検討した。0.4nM の docetaxel で 3 日間処理した結果、CAF1, CAF2 は docetaxel 処理していない場合と比較して、生存細胞率がそれぞれ 75%、59%に達した(図 2)。

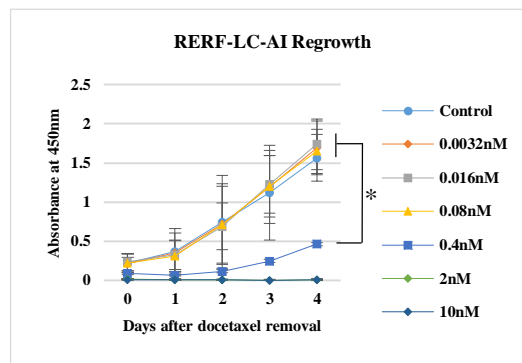


図 1. Docetaxel 除去後のがん細胞の再増殖

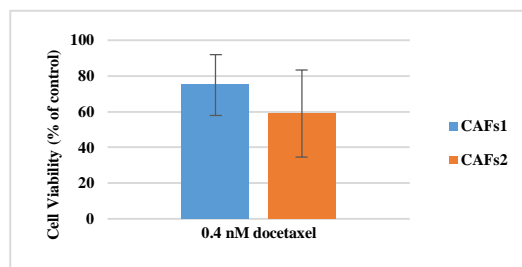


図 2. Docetaxel による CAFs の増殖抑制

(3) CAFs 由来の CM が docetaxel 処理/非処理 RERF-LC-AI 細胞の再増殖に与える影響

CAF1 と CAF2 由来の CM は、docetaxel 処理の有無に関わらず、docetaxel 前処理がん細胞の増殖には影響を与えなかった。尚、本実験でのコントロールには、がん細胞由来の CM を用いた。

また、CAF 由来の CM が docetaxel 非処理 RERF-LC-AI 細胞の増殖に与える影響を検討した結果、CAF1 と CAF2 由来の CM が docetaxel 処理の有無に関わらず、docetaxel 非処理がん細胞の増殖に影響しなかった(図 3)。

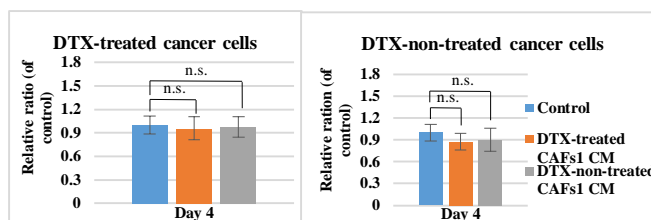


図 3. CAFs 由来の CM が docetaxel 処理/非処理

RERF-LC-AI 細胞の再増殖/増殖に与える影響 (代表: CAFs1)

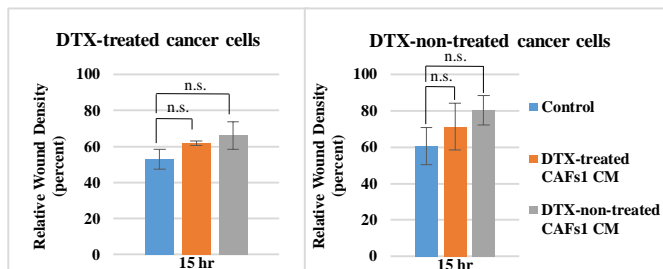


図 4. CAFs 由来の CM が docetaxel 処理/非処理がん細胞の

遊走能に与える影響 (代表: CAFs1)

(4) CAFs 由来の CM が docetaxel 処理/非処理 RERF-LC-AI 細胞の遊走能に与える影響

CAF1 と CAF2 由来の CM は、docetaxel 処理の有無に関わらず、docetaxel 前処理がん細胞の遊走能には影響を与えなかった。次に、Docetaxel 処理/非処理の CAFs CM による docetaxel 非処理 RERF-LC-AI 細胞の遊走能

(15 時間) を検討した結果、同様な結果が得られた(図 4)。

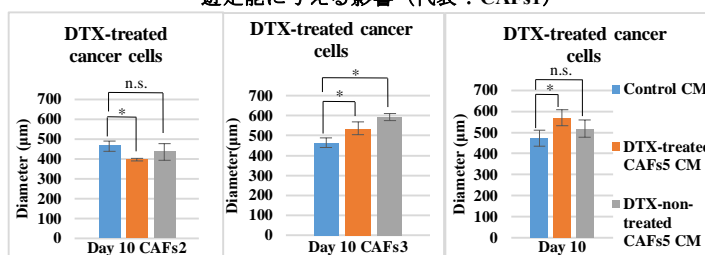


図 5. CAFs 由来の CM が docetaxel 処理がん細胞の sphere 形成に与える影響

(5) CAFs 由来の CM が docetaxel 処理 RERF-LC-AI 細胞の sphere 形成に与える影響

5 検体由来の docetaxel 処理/非処理 CAFs CM を用いて、docetaxel 前処理の RERF-LC-AI 細胞の sphere 形成に与える影響を検討した(10 日間)。CAF1、CAF4 CM は、docetaxel 処理の有無に関わらず、docetaxel 前処理のがん細胞の sphere 形成に影響しなかった。Docetaxel 処理の CAF2 CM は、docetaxel 前処理のがん細胞の sphere 形成を有意に抑制した。Docetaxel 処理/非処理の CAF3 は、docetaxel 前処理のがん細胞の sphere 形成を有意に促進した。Docetaxel 処理した CAF5 は、docetaxel 前処理がん細胞の sphere 形成を特異的に促進した。したがって、docetaxel 処理によりがん細胞と CAFs の間で、腫瘍促進的な新規相互作用が形成されることが示唆された(図 5)。

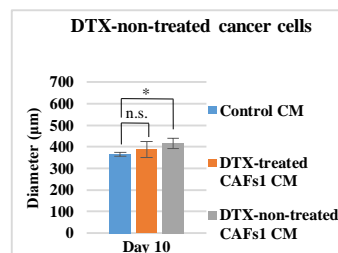


図 6. CAFs 由来の CM が docetaxel

非処理がん細胞の sphere 形成に与える影響

(6) CAFs 由来の CM が docetaxel 非処理 RERF-LC-AI 細胞の sphere 形成に与える影響

Docetaxel 非処理 CAF1 CM は docetaxel 非処理がん細胞の sphere 形成を有意に促進した。CAF2、CAF3、CAF4、CAF5 は docetaxel 非処理がん細胞の sphere 形成に影響しなかった(図 6)。

【結論】

Docetaxel 処理した CAF5 と docetaxel 処理したがん細胞の間で、がん細胞の足場非依存性増殖(sphere 形成)を促進する新規相互作用が形成されることが示唆された。