

The CD105+ cells in the blood of human lung cancer neighborhood contain mesenchymal progenitors

(ヒト肺がん近傍血液由来の CD105 陽性細胞画分には間葉系前駆細胞が存在する)

学生証番号 46538 がん先端生命科学分野 千葉 治樹

【序論】

ヒト骨髄中には、骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞、線維芽細胞のような種々の間葉系細胞への分化能を有する間葉系前駆細胞が存在している。近年の報告から成体内において損傷した間葉系組織の修復やがん組織形成に伴って生じるような組織の線維化の際に、骨髄由来間葉系前駆細胞が動員され、組織の構築に寄与することが明らかにされている。骨髄由来間葉系前駆細胞は、血液を介して組織に動員されていることが予想されているが、実際に成人血液中に間葉系前駆細胞が存在していることを示す報告は少なく、議論の余地が残る。

一般にがんは成人において発症し、がん組織においてがん細胞による組織の損傷と修復が持続して起こっていると考えられている。このことから成人がん近傍血液中にはがん組織へと動員される間葉系前駆細胞が存在しているのではないかと考えた。本研究では、成人がん組織近傍血液において間葉系前駆細胞が存在することを明らかにし、その特徴を同定することを目的とした。

【結果】

1. ヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞の樹立とその形質の解析

ヒトがん近傍血液中に間葉系前駆細胞が存在することを明らかにするため、ヒト肺がん切除組織内の肺動脈血から、単核細胞を分離し、培養した。培養 3 日目に浮遊細胞を除去し、その後は 7 日ごとに新鮮培地に交換しながら、8 週間まで細胞を培養した。その結果、細胞群内の少数の集団から増殖性を有した接着細胞が出現した (29/31 症例)。これらの細胞は骨髄由来間葉系前駆細胞と同様に線維芽細胞様の形態を呈していた。このことから、がん患者において、線維芽細胞様細胞前駆細胞が肺動脈血中に高頻度で存在していることが示された。

次にヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞の特徴を明らかにするために、発現タンパク質を免疫組織化学的染色法により調べた。その結果、ヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞は調べた 3 症例全てにおいて、間葉系細胞によって主に産生される CD44、CD105、Collagen I、Smooth muscle actin、Vimentin、STRO-1 を発現していた。また、単球マーカーである CD14、血管内皮マーカーである CD31、リンパ球マーカーである CD45、造血系前駆細胞マーカーである CD34、CD117 は発現していなかった。

また、ヒト骨髄由来細胞、肺がん組織、通常肺組織由来線維芽細胞と発現タンパク質を比較したところ、全ての組織由来細胞で発現タンパク質は一致していた。このことから、骨髄から肺組織へ動員される間葉系細胞群と一致する集団である可能性が示唆された。

2. ヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞の各種間葉系細胞への分化能の解析

次にヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞がもつ、種々の間葉系細胞への分化能を明らかにするために以下の手順を行った。骨髄由来間葉系前駆細胞を骨芽細胞へと分化させる誘導条件を用いて、ヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞を培養した。その結果、分化誘導した 3 症例全てにおいて、線維芽細胞様細胞周囲に骨基質が出現した。分化誘導後の細胞は、骨芽細胞マーカーである Alkaline phosphatase 陽性、von Kossa 染色陽性であった。同様に脂肪細胞への分化を誘導すると、

誘導した3症例全てにおいて、線維芽細胞様細胞には大きな脂肪滴が出現し、その大きさ、数ともに経時的に増加した。これらの脂肪滴は、脂肪細胞マーカーである oil red O 染色陽性を示した。同様に軟骨細胞への分化を誘導したが、ヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞は軟骨細胞への分化は示さなかった。

以上の結果から、ヒト肺動脈血由来線維芽細胞様細胞は少なくとも骨芽細胞と脂肪細胞への分化能を有している間葉系前駆細胞であることが示された。

3. ヒト肺動脈血由来間葉系前駆細胞が含まれる細胞画分の同定

次に、間葉系前駆細胞が血液中において豊富に存在する画分を同定するため、単球マーカーである CD14、T リンパ球マーカーである CD3、B リンパ球マーカーである CD20、血管内皮あるいは間葉系細胞マーカーである CD105 のそれぞれのモノクローナル抗体と抗体結合磁気ビーズを用いて、がん患者肺動脈血液の単核細胞中から各抗体陽性細胞を分離、培養した。この結果、検討した全ての症例において CD105 陽性細胞画分から増殖性を有する線維芽細胞様細胞が出現した。また、ヒト肺動脈血中において CD105 陽性細胞画分が全単核細胞中に占める割合は $3.9 \pm 1.6\%$ だった。

このことから、ヒト肺動脈血由来間葉系前駆細胞は血液単核細胞中の CD105 陽性細胞画分に豊富に存在していることが示唆された。

肺動脈血中 CD105 陽性細胞画分由来線維芽細胞様細胞が全単核細胞から分離、培養した細胞群と同様に間葉系細胞への分化能を有することを確認するために、同一症例の肺動脈血から分離した CD105 陽性細胞画分を培養し、増殖性を示した線維芽細胞様細胞の異なる2つのコロニーを分離、培養し、骨芽細胞、脂肪細胞への分化誘導を行った。異なる2つのコロニーに由来する細胞群は共に骨芽細胞、脂肪細胞への分化を示した。

【まとめと考察】

本研究は、ヒト肺がん近傍血液由来の CD105 陽性細胞画分に、少なくとも骨芽細胞、脂肪細胞の2つの系統への分化能を有する間葉系前駆細胞が存在していることを示した。本研究はヒト肺がん患者の血液中に間葉系前駆細胞が存在することを初めて明らかにした報告である。本研究では、がん組織形成に際して間葉系前駆細胞が骨髄から血液中に動員されることを予想したが、今回分離したヒト肺動脈血由来間葉系前駆細胞には骨髄由来のものと異なり、軟骨細胞への分化能が示されなかった。このことから、骨髄由来間葉系前駆細胞とは機能が異なる間葉系前駆細胞が成人血液中を流れている可能性が示唆された。

間葉系前駆細胞は自己細胞を用いることができるので拒絶反応の心配がなく、またヒトの受精卵を使う ES 細胞のような倫理的問題が生じる余地が限られているために、再生医療への応用が期待されている。間葉系前駆細胞がヒトがん患者の血液中に高頻度で含まれることを示す本研究は、血液が成人における間葉系前駆細胞の新たな供給源となりうることを示す点において、意義深い。