

非小細胞肺癌における上皮間葉移 (EMT)

大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器外科学 奥村 明之進、新谷 康

現在、非小細胞肺癌の診療における外科的な関心事項は、早期・小型肺癌をいかにして低侵襲で治療するかということであり、肺機能温存を目的とする区域切除などの縮小手術の適応の明確化、胸腔鏡手術による胸壁・呼吸筋の機能温存の技術の上昇などである。しかし、手術時の病理診断での早期癌でも再発を来すこともしばしばあり、またリンパ節転移を伴う進行肺癌の治療成績の向上も目指さなければならない。そのためには、集学的治療のさらなる進歩、抗癌剤耐性の克服、転移抑制が必須である。

近年、癌腫の転移や治療耐性のメカニズムの研究が進んでおり、中でも上皮間葉移行 (Epithelial-mesenchymal transition, EMT と略す) と呼ばれる現象が注目されている。すなわち、EMT が出現した癌細胞が、抗癌剤や放射線治療への耐性を獲得し、さらには癌幹細胞の性質を獲得して治療に抵抗するという考えである。

当教室では、肺癌においても同様の現象が起こりうるのかどうかを研究してきた。

まず、肺癌の細胞株 (A549 など) を用いて、抗癌剤耐性あるいは放射線耐性となった株の形質を検討したところ、肉眼的に紡錘型になること、cadherin が E-cadherin から N-cadherin へ変化すること、cytokeratin の発現が下がり替わって vimentin の発現が上昇することなどを *in vitro* の実験系で確認した¹⁾。

次に、上記の現象を臨床の現場で明らかにするため、進行病期の非小細胞肺癌への術前導入療法に注目した。局所浸潤あるいは縦隔リンパ節転移を伴う非小細胞肺癌症例には、放射線化学療法後に外科切除されることが多い。このような *clinical practice* を利用して、導入療法前の診断のために得られた組織と、導入療法後に切除された組織を比較検討しえた。

その結果、放射線化学療法後に EMT と判断しうる変化、すなわち E-cadherin から N-cadherin への移行、cytokeratin の消失と vimentin の発現が、導入療法を施行された症例の一部に確認された。興味深いことに、術前導入療法後の EMT の有無と無再発生存率を比較したところ、図 1 に示すように EMT が認められた群では有意に予後不良であった¹⁾。

以上より、非小細胞肺癌の臨床においても、腫瘍細胞が治療抵抗性の形質を獲得するメカニズムの少なくとも一部は EMT が関与していると思われる。

EMT を惹起するメカニズムの解明は、治療抵抗性の腫瘍への新たな治療戦略を開き、癌治療成績の向上には必須と考えられる。一般に、EMT が TGF β によって誘導されることが知られている。TGF β の供給源についての探索は治療への応用につながるかもしれない。近年、腫瘍組織内の間質の機能が注目を集めており、当教室では腫瘍組織内の繊維芽細胞 (cancer-associated fibroblast, CAF と略す) に着目してその役割を探索した²⁾。

まず *in vitro* で以下の実験を行った。外科的に切除された肺癌組織から CAF を抽出して培養し、培養上清 (CAF-上清) を回収した。肺腺癌細胞株の A549 を CAF-上清で培養すると、E-cadherin の発現低下、N-cadherin と vimentin の発現上昇が認められた。CAF-上清に TGF β の阻害剤である SB431542 を加えると、A549 にはこれらのマーカーの変化は起こらなかった。CAF-上清で培養された A549 は、sphere formation assay にて spheroid body の形成が観察されたが、通常の培養液中では spheroid body は形成されなかった。CAF-上清で培養された A549 は、シスプラチンに対する抵抗性も示した。Cancer stem cell マーカーである CD44 と CD133 の発現を評価したところ、CAF-上清で培養された A549 では、

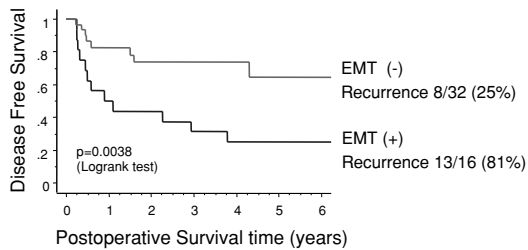


図1 進行病期の非小細胞肺癌に対する導入化学放射線治療後の予後。切除腫瘍組織における EMT の有無と無再発生存期間の関係。

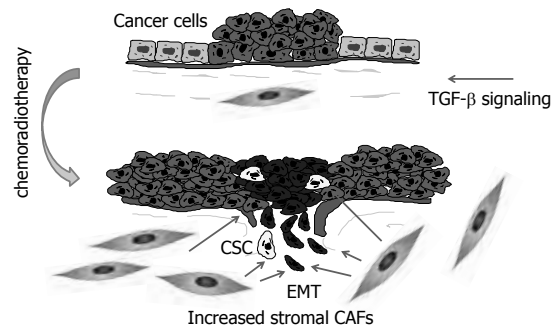


図2 腫瘍組織内の EMT と CAF の関係に関する仮説 (CSC: cancer stem cell)

通常培養条件下に比べて、これらのマーカーの発現を上昇させていた。

次に、マウスを用いた *in vivo* 実験を行った。A549をCAFとともにマウスの皮下に接種すると、CAFの無い場合に比して、有意に腫瘍形成能力が上昇していた。一方、TGFβ阻害薬を投与すると、CAFとの併接種によるA549の腫瘍形成は抑制された。

以上の結果から、図2に示すように、CAFはTGFβを腫瘍細胞に供給し、腫瘍細胞のEMTを誘導することで治療抵抗性などの癌幹細胞の性質を獲得させる。その結果、化学療法や放射線治療に耐性のクローンが出現し、転移巣や残存腫瘍の増大につながると推測される。しかし、肺癌組織内のどの細胞からのどのようなシグナルがCAFを活性化させるのかは明らかではない。今後の研究成果が期待される。

腫瘍細胞とCAFの相互関係があるならば、腫瘍細胞とCAFとの直接作用に介在する分子か、あるいは腫瘍細胞からの液性因子が解明されれば、CAFの活性化を阻害して腫瘍の増殖・転移を抑制できる可能性がある。今後の肺癌治療において、CAFの機能の阻害やTGFβ阻害薬などを利用したEMT誘導の抑制による新たな方法論の開発と確立が待たれる。

文献

- 1) Shintani Y, Okimura A, Sato K, Nakagiri T, Kadota Y, Inoue M, Sawabata N, Minami M, Ikeda N, Kawahara K, Matsumoto T, Matsuura N, Ohta M, Okumura M. Epithelial to mesenchymal transition is a determinant of sensitivity to chemoradiotherapy in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 92(5): 1794-1804, 2011.
- 2) Shintani Y, Abilimiti A, Kimura T, Funaki S, Nakagiri T, Inoue M, Sawabata N, Minami M, Morii E, Okumura M. Pulmonary fibroblasts induce epithelial mesenchymal transition and stemness in non-small-cell lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2013 In press.