

## ガン化と線維芽細胞の活性化

塚 田 晃 三

日本獣医生命科学大学 獣医病理学教室

日獣生大研報 55, 49-51, 2006.

腫瘍の診断には、古くから確立された病理組織診断法が現在でも用いられ、分子生物学的技術とその解析機器の発展が著しい現代においても、この手法に置換される確定診断法は確立されておらず（染色技術の発展や共焦点レーザー顕微鏡などのハイテク機器の恩恵を受ける場合もあるが）、基本的にはヒトの目に委ねる部分が多い。

腫瘍生検の病理組織をみると、興味深いことに悪性度の強い腫瘍ほど、その周囲の線維芽細胞が著しい活性化を伴って増殖している像が観察される。「何故、そんなことが起っているのか」。これには、様々な因果関係が存在していて、今日までの研究成果から、この線維芽細胞を制することが、悪性腫瘍の克服に重要なカギの1つとなっていることがわかってきた<sup>1)</sup>。

線維芽細胞の増殖像は少なくとも19世紀ごろから着目され、顕微鏡から悪性度の診断の見極めに用いられてきた<sup>2)</sup>。現在では、悪性腫瘍によって活性化した線維芽細胞は、正常の線維芽細胞との発現分子や機能の違いから Cancer-Associated Fibroblasts (CAFs) 又は Tumor-Associated Fibroblasts (TAFs) 又は Tumor-stromal fibroblasts 又は Tumor-stroma 等と呼ばれている<sup>3)</sup>。CAFs は特有の分子である Fibroblast Activation Protein (FAP)<sup>4)</sup> の発現の他、 $\alpha$ -Smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA)<sup>5)</sup> 又は Fibroblast-Specific Protein 1 (FSP1) (S100A4 又は Metastasin 1 (Mst1) ともいう)<sup>6)</sup> などの分子を発現していることが知られている。

多くの悪性腫瘍は、Tumor Growth Factor  $\beta$  (TGF $\beta$ )、Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) 及び Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2) などを分泌し、これらの物質は周囲の線維芽細胞を CAFs へと分化誘導する<sup>7)</sup>。CAFs は、様々な増殖因子やケモカインなどを分泌し、腫瘍細胞の増殖と転移の進行を促進させる。例えば、CAFs が産生する TGF $\beta$ 1 及び Tenascin C は、腫瘍細胞の増殖を促し<sup>8)</sup>、Matrix Metalloproteinase-3, -13 (MMP-3, -13) の産生は E-cadherin 分解などによる細胞間接着を解離し<sup>9)</sup>、コラーゲン I 及び III の産生も伴って、結果的にはガン細胞の転移と浸潤の足場を築く<sup>10)</sup>。また、Hepatocyte Growth Factor (HGF) の産生は CAFs 自身や上皮系細胞の増殖を促し<sup>11)</sup>、Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) 産生は血

管新生を導く<sup>12)</sup>。Monocyte Chemotactic Protein 1 (MCP 1, 又は CCL2 ともいう) などのケモカインや IL-1 などのサイトカインの産生は腫瘍内血管より好中球、マクロファージを主体とする炎症細胞の浸潤を導き<sup>13)</sup>、腫瘍内での壊死に伴って動員される。一方、CAFs は、TGF $\beta$ 1 や Indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO)<sup>14)</sup> といった免疫抑制因子を産生し、これらは、抗原特異的免疫応答において重要な T 細胞の増殖や樹状細胞の活性化を抑制する。また、CAFs は腫瘍周辺において被膜を形成するため、結果、ガン抗原特異的なキラー T 細胞が腫瘍組織周辺に集積するが、その機能は物理的に封印された状態となる。

最近の興味深い研究では、線維芽細胞において TGF $\beta$  シグナル伝達系がブロックされることで HGF 発現が亢進し、これらの線維芽細胞の周囲の組織がガン化することが示された。Bhowmick らは、FSP1-Cre TGF $\beta$ R II<sup>fsp1KO</sup> マウス (Cre-loxP システムを用いた線維芽細胞の FSP1 遺伝子のプロモーターで誘導される TGF $\beta$  レセプター II の欠損マウス: このマウスでは、線維芽細胞のみに TGF $\beta$  レセプター II の欠損が認められ、その他の細胞では正常に発現される) を作成し、正常マウスとその欠損マウスについて臓器別の病理組織と遺伝子発現を解析した。その結果、このマウスは、前立腺及び胃の組織において HGF 遺伝子 (mRNA) の発現が亢進し、約 8 週齢までに前立腺ガン及び胃ガンを発症して死亡した<sup>11,15)</sup>。この現象は、遺伝子改変された線維芽細胞が HGF 産生の CAFs 様細胞へと分化することによって、その周囲の正常組織が悪性腫瘍へと変化することを示している。TGF II $\beta$  は、腫瘍にとっては増殖因子であるが、多くの正常細胞にとっては抑制性因子として働く。この論文のデータから、線維芽細胞は生理的には常に TGF $\beta$  による増殖抑制 (HGF を発現する CAFs への分化の抑制制御) を受けていることが示唆される。この実験系では、人工的に遺伝子改変操作で線維芽細胞の TGF $\beta$  に対する感受性を欠損させているが、自然界又は腫瘍周辺の環境下において、実際に線維芽細胞が TGF $\beta$  に対する感受性を失うか否か (TGF $\beta$  レセプターのダウン・レギュレーションも含む)、また、その事と CAFs 様細胞への分化との関連性についてはわかっていない。

現在使用されている多くの抗ガン剤は、ガン細胞の増殖

を直接的且つ強力に抑制するが、同時に骨髄抑制や脱毛などの生理的副作用も誘発するためガン患者は苦痛を強いられる。また、一部のガン細胞又はガン幹細胞 (cancer stem cells) が  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ポンプの機能亢進に伴い、薬剤多耐性を獲得し、最悪なことにガン転移や再発するケースが少なくない。最近、腫瘍の産生する  $\text{TGF}\beta$  を制御しようとする研究が着目されているが、生理的に分泌されている  $\text{TGF}\beta$  までも抑制されると、様々な副作用が予想される。例えば、線維芽細胞の CAFs (HGF 産生細胞) への分化もその 1 つであり、プロジェクトをよく吟味する必要があるだろう。最近、薬剤の分子標的を、CAFs 特有のシグナル分子に向けることにより、ガン攻略の 1 つとして期待されている。Loeffler らは、CAFs 特有分子の 1 つ FAP に対する DNA ワクチンを用いて、薬剤多耐性になった腫瘍の増殖と転移を抑制したと報告した。彼らは、薬剤多耐性の腫瘍細胞をマウスの皮膚に移植後、FAP を遺伝子導入した *salmonella typhimurium* を経口投与し、同時に化学療法としてドキシソルビシンの静脈投与を行った。その結果、ドキシソルビシン単独投与に比べ、腫瘍周辺組織において、FAP 及びコラーゲン I の発現が抑制され、 $\text{CD8}^+$ T 細胞の増加を伴った (このとき、 $\text{CD4}^+$ T 細胞及び NK 細胞については関与が認められなかった) 腫瘍拒絶が誘導されることが示された<sup>16)</sup>。彼らの *S. typhimurium* の経口投与法は、従来から確立した方法で、腫瘍による抗原特異的  $\text{CD8}^+$ T 細胞の末梢トランスを解除することができるかと彼らは主張している。

さて、ガン早期発見に関わる線維芽細胞を用いたユニークな話題がある。皮膚の線維芽細胞を調べることにより、潜在的なガン細胞の存在を見つけ出す手法が 1986 年に報告された。ずいぶん古い話なので、何がトピックなのかお叱りを受けるかもしれないが、この論文では、乳がん患者の線維芽細胞をポジティブ・コントロールにして、網膜芽腫、家族性大腸ポリポース、ウィルムス腫などのガン化の遺伝性素因をもつまだ発症していない患者について、それぞれの皮膚の線維芽細胞を採取して試験管内で増殖能を比較解析した結果、増殖率が正常に比べて増大していたという<sup>17)</sup>。現在の認識から、増殖率の高い線維芽細胞を CAFs と考えて良いと思われるが、この理論から考えると、潜在的に悪性腫瘍が発生すると、皮膚の線維芽細胞においても CAFs への分化誘導が起る、又は、腫瘍周辺で形成された CAFs が皮膚に移行することを意味しており、これが事実だとしたら、現在のテクノロジーを屈指した分子レベルの解析法や様々なガン疾患との関係を追試することにより新しい診断法として有効な知見になるかもしれない。

線維芽細胞は全身のどこにでも存在し、損傷部位の化膿に続く、肉芽組織形成といった現象は日常茶飯事に起るが、これらは正常組織へと修復される。しかし、肝硬変、肺線維症などで見られるように、広範囲な組織の線維化は、おそらく CAFs 形成が進み、ガン化へと進行するのかもしれない。ガン細胞により CAFs 形成される又は CAFs

形成によりガン化するといった現象はどちらが先か定かでないが、基本的には、線維芽細胞は周囲の組織を増殖及び活性化させるはたらきを持っているようだ。線維芽細胞を制御することにより、ガンという病気の悪循環を断ち切ることができるかもしれない。本トピックでは「活性化線維芽細胞とガン細胞との関係」をご紹介したが、ガン研究における何らかの発想の転換、新しい治療法や診断法の開発などに御役に立てられれば幸いである。

## 参 考 文 献

- 1) KALLURI, R., ZEISBERG, M. (2006). Fibroblasts in cancer. *Nature Rev. Cancer* **6** : 392-401.
- 2) DUVALL, M. *Atlas d' Embryologie* (Masson, Paris, 1879.)
- 3) MUELLER, M.M., FUSENIG, N.E. (2004). Friends or foes: bipolar effects of the tumour stroma in cancer. *Nature Rev. Cancer* **4** : 839-849.
- 4) GARIN-CHESA, P., OLD, L.J., RETTIG, W.J. (1990). Cell surface glycoprotein of reactive stromal fibroblasts as a potential antibody target in human epithelial cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87** : 7235-7239.
- 5) TOMASEK, J.J., GABBIANI, G., HINZ, B., CHAPONNIER, C., BROWN, R.A. (2002). Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.* **3** : 349-363.
- 6) STRUTZ, F., OKADA, H., LO, C.W., DANOFF, T., CARONE, R.L., TOMASZEWSKI, J.E., NEILSON, E.G. (1995). Identification and characterization of a fibroblast marker : FSP1. *J. Cell. Biol.* **130** : 393-405.
- 7) ELENBAAS, B., WEINBERG, R.A. (2001). Heterotypic signaling between epithelial tumor cells and fibroblasts in carcinoma formation. *Exp. Cell. Res.* **264** : 169-184.
- 8) ISHIHARA, A., YOSHIDA, T., TAMAKI, H., SAKAKURA, T. (1995). Tenascin expression in cancer cells and stroma of human breast cancer and its prognostic significance. *Clin. Cancer Res.* **1** : 1035-1041.
- 9) LOCHTER, A., GALOSY, S., MUSCHLER, J., FREEDMAN, N., WERB, Z., BISSELL, M.J. (1997). Matrix metalloproteinase stromelysin-1 triggers a cascade of molecular alterations that leads to stable epithelial-to-mesenchymal conversion and a premalignant phenotype in mammary epithelial cells. *J. Cell. Biol.* **139** : 1861-1872.
- 10) BROWN, L.F., GUIDI, A.J., SCHNITT, S.J., VAN DE WATER, L., IRUELA-ARISPE, M.L., YEO, T.K., TOGNAZZI, K., DVORAK, H.F. (1999). Vascular stroma formation in carcinoma in situ, invasive carcinoma, and metastatic carcinoma of the breast. *Clin. Cancer Res.* **5** : 1041-1056.
- 11) BHOWMICK, N.A., CHYTIK, A., PLETCH, D., GORSKA, A.E., DUMONT, N., SHAPPELL, S., WASHINGTON, M.K., NEILSON, E.G., MOSES, H.L. (2004). TGF-beta signaling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adja-

- cent epithelia. *Science* **303** : 848-851.
- 12) FUKUMURA, D., XAVIER, R., SUGIURA, T., CHEN, Y., PARK, E.C., LU, N., SELIG, M., NIELSEN, G., TAKSIR, T., JAIN, R.K., SEED, B. (1998). Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell* **94** : 715-725.
- 13) SENGER, D.R., GALLI, S.J., DVORAK, A.M., PERRUZZI, C.A., HARVEY, V.S., DVORAK, H.F. (1983). Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* **219** : 983-985.
- 14) GHAHARY, A., LI, Y., TREDGET, E.E., KILANI, R.T., IWASHINA, T., KARAMI, A., LIN, X. (2004). Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in dermal fibroblasts functions as a local immunosuppressive factor. *J. Invest. Dermatol.* **122** : 953-964.
- 15) BHOWMICK, N.A., NEILSON, E.G., MOSES, H.L. (2004). Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature* **432** : 332-337.
- 16) LOEFFLER, M., KRUGER, J.A., NIETHAMMER, A.G., REISFELD, R.A. (2006). Targeting tumor-associated fibroblasts improves cancer chemotherapy by increasing intratumoral drug uptake. *J Clin Invest.* **116** : 1955-1962.
- 17) SCHOR, S.L., HAGGIE, J.A., DURNING, P., HOWELL, A., SMITH, L., SELLWOOD, R.A., CROWTHER, D. (1986). Occurrence of a fetal fibroblast phenotype in familial breast cancer. *Int.J. Cancer* **37** : 831-836.
-