

異なる脂肪組織由来間葉系幹細胞の乳がん細胞転移能に対する影響

森口 佳奈 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 大根田 修 (筑波大学 医学医療系)

【背景】

乳がんは女性が罹患するがんの中で最も多く、転移や再発を伴うケースが多い。転移には、がん細胞を取りまくがん微小環境が大きく影響する。この微小環境にはマクロファージをはじめとした免疫系の細胞、血管内皮細胞や間質細胞などが含まれる。乳腺組織を取り巻く間質細胞の中には間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell: MSC) が存在する。MSC は脂肪細胞や骨細胞、軟骨細胞への分化能を有する組織幹細胞の1種で、骨髄や脂肪組織を始めとして多くの組織から容易に単離することが可能である。豊富な脂肪組織に囲まれる乳がん細胞の微小環境には MSC が存在しており、先行研究によって、脂肪組織由来 MSC は *in vitro* でがん細胞の遊走能・浸潤能を促進することが報告された[1]。 *in vivo* でも脂肪組織由来 MSC ががんの転移を促進することが報告されている[1]。

活性化白血球細胞接着分子 (Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule: ALCAM/CD166) は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する I 型膜貫通タンパクであり、CD6-ALCAM の異種結合、もしくは ALCAM-ALCAM の同種結合を形成する接着因子の一つである。Davies らによって、乳がん患者由来がん組織では、転移や再発などの予後が ALCAM の発現と負の相関性を示すことが報告された[2]。さらに ALCAM の発現をノックダウンさせた乳がん細胞株 MDA-MB-231 で遊走能が上昇することや、逆に ALCAM を過剰発現させた乳がん細胞株 MCF-7 では遊走能が減少することが報告されている[3]。これらの報告から乳がん細胞の ALCAM 発現ががんの転移に大きく影響している可能性が高い。

一方、がん微小環境においてはがん細胞が間質細胞の性質を変化させることが多く報告されているが、そのほとんどがサイトカイン等の液性因子に着目しているものであり、ALCAM 等の細胞接着因子に着目した件は少ない。

【目的】

本研究では、がん転移における ALCAM 発現の影響について、がん細胞だけではなく MSC における ALCAM 発現に着目し、乳がん細胞が MSC の ALCAM 発現に対してどの様に影響を及ぼしているのかについて解析を行う。

【材料と方法】

乳がん患者腫瘍内組織由来 MSC (Breast Cancer derived MSC: BC-MSC) の ALCAM 発現の定量を行った。さらに乳がん細胞と健常者脂肪組織由来 MSC (Adipose tissue derived MSC: AT-MSC) の間接 / 直接共培養系を用いて乳がん細胞が AT-MSC の ALCAM 発現を減少させるかどうかを解析した。

① 乳がん患者腫瘍内組織由来細胞の解析

MSC のクライテリアとして、細胞表面マーカー (CD105+, CD73+, CD90+, CD45-, CD34-, CD14-, CD19-, HLA-DR-) と分化能 (脂肪細胞、骨細胞、軟骨細胞への分化) がある[4]。乳がん患者腫瘍内組織から単離した細胞が MSC であることを確認するため、培養した細胞の表面抗原マーカー発現をフローサイトメトリーで解析した。分化能の評価では細胞をコンフルエントになるまで培養した後、脂肪・骨・軟骨それぞれの分化培地に切り替えた。数週間後、分化能を評価するため Oil Red O・Alizarin Red・Toluidine Blue により染色した。

② 乳がん患者腫瘍内組織由来 MSC の ALCAM 発現の解析

BC-MSC の ALCAM 発現をフローサイトメーターと RT-PCR 法で解析し、ALCAM を含む MSC マーカー発現を AT-MSC と比較した。

③ 乳がん細胞と健常者脂肪組織由来 MSC との間接 / 直接共培養系の構築

乳がん細胞からの MSC への影響を解析するために、MDA-MB-231 もしくは MCF-7 乳がん細胞株を用いる。これらの乳がん細胞株由来の培地上清を含む培地にて AT-MSC を培養した。並行して、乳がん細胞株と AT-MSC を直接混ぜ合わせた共培養系を用いて解析した。数日間共培養した後、MSC を単離し、ALCAM 発現変化をフローサイトメーターと RT-PCR 法で解析した。

【結果と考察】

発表会当日にて報告させていただきます。

【参考文献】

- 1) Rowan et al.(2014) PLOS ONE 9: e89595
- 2) Davies et al. (2008) Oncology Reports 19: 555-561
- 3) Hein et al. (2011) Breast Cancer Research and Treatment 129:347-360
- 4) Dominici et al. (2006) Cytotherapy 8:315-317

