

SARS-CoV-2による乳がん細胞に対する影響

河原 舞理恵 (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)

【背景と目的】

コロナウイルスの一種である SARS-CoV-2 の感染が世界中に広がり、死者数・感染者数の増加は今もなお続いている。SARS-CoV-2 は主に、スパイク、膜、ヌクレオカプシド、エンベロープの4つのタンパク質によって構成されており、その中の一つであるスパイクタンパク質が、細胞に存在している ACE2 受容体と結合することによって、細胞内へ侵入する(Ashraf *et al*, *Physiol Genomics*, 2021)。一方で、ACE2 の細胞表面での発現が減少することで、炎症反応を促進するシグナル伝達経路が過剰に活性化され、宿主に害を及ぼすことが報告されている(Hirano and Murakami, *Immunity*, 2020)。

SARS-CoV-2 の感染によって引き起こされる様々な症状が検討されている中、がん患者が感染すると症状が重症化することや、死亡率が増加する傾向があることが報告された(Robilotti *et al*, *Nat Med*, 2020)。しかし、SARS-CoV-2 とがんとの間には実際どのような関係が存在するのか、まだ明らかになっていない。特に乳がんは、女性がん患者のおよそ30%を占める普遍的ながんであることに加え、死亡率が高いことが報告されており(Siegel *et al*, *CA Cancer J Clin*, 2019)、さらなる研究が必要とされる。

今回は乳がん細胞に着目し、SARS-CoV-2 構成タンパク質の1つである膜タンパク質が与える影響について検討を行った。

【実験方法】

(1)SARS-CoV-2 膜タンパク質が乳がん細胞に与える影響の検証

SARS-CoV-2 膜タンパク質処理をしたヒト乳がん由来細胞 MCF7 について、*in vitro* で細胞運動能、浸潤能、増殖能、スフェア形成能、遺伝子発現を調べた。また、膜タンパク質処理をした MCF7 をマウス (C57BL/6J) の尾静脈に投与し、2週間後の肺への転移能を評価した。

(2)膜タンパク質による細胞運動能促進メカニズムの解明

膜タンパク質により活性化されるシグナル伝達経路を明らかにするため、上皮間葉転換 (EMT) 関連遺伝子の発現制御に寄与する NF- κ B、JAK-STAT シグナル伝達経路(Pires *et al*, *PLoS One*, 2017)(Ma *et al*, *Cell Commun Signal*, 2020)の活性を調べた。膜タンパク質と NF- κ B 阻害剤/STAT3 阻害剤で処理をした MCF7 について、*in vitro* で細胞運動能、遺伝子発現、タンパク質発現を解析した。

(3)膜タンパク質存在下で転移性乳がん細胞が周囲の低転移性がん細胞に与える影響の検証

腫瘍は Heterogeneous な細胞集団であり、非転移性の細胞は転移性細胞との細胞間コミュニケーションを通して転移能を獲得し、腫瘍の進展を促進することが報告されている(Milane *et al*, *J Control Release*, 2015)。そこで今回は膜タンパク質存在下において、悪性度が高いヒト乳がん由来細胞 MDA-MB-231 が、MCF7 に与える影響について解析した。膜タンパク質存在下で、MDA-MB-231 と 48 時間共培養した MCF7 について、*in vitro* で細胞運動能、増殖能、スフェア形成能、遺伝子発現を調べた。

【結果】

(1)膜タンパク質はMCF7の細胞運動を促進する

乳がん細胞 MCF7 を SARS-CoV-2 膜タンパク質で処理した結果、細胞運動能、浸潤能が有意に増加した。また、膜タンパク質処理をした MCF7 において、EMT に関する遺伝子 Zeb1, Zeb2, Slug, Twist や、低酸素応答遺伝子 HIF-1 α の発現量の増加が確認できた。しかし、細胞増殖能やスフェア形成能、*in vivo* における転移能は変化が見られなかった。以上の結果、膜タンパク質による作用は、MCF7 において細胞運動の促進に寄与するが、転移の促進には至らないと考えられた。

(2)膜タンパク質による NF- κ B、JAK-STAT シグナル伝達経路の活性化がMCF7の細胞運動能亢進に寄与する

膜タンパク質処理をした MCF7 において、NF- κ B ファミリーである p50 の発現や、STAT3 のリン酸化が有意に増加した。また、膜タンパク質処理によって増加した細胞運動能は、NF- κ B 阻害剤/STAT3 阻害剤により有意に減少した。膜タンパク質によって発現が増加した遺伝子について、NF- κ B 阻害剤により Twist の発現が、STAT3 阻害剤により Zeb1, Zeb2 の発現が抑制された。

(3)膜タンパク質存在下で、転移性乳がん細胞は周囲の低転移性がん細胞の悪性化や、SARS-CoV-2 感染リスクの増加を促す

膜タンパク質存在下で、MDA-MB-231 と MCF7 を共培養した結果、MCF7 の細胞運動能、増殖能、スフェア形成能が有意に増加した。また、がんの進展に関するサイトカイン IL-6, TNF- α , IL-8(Nicolini *et al*, *Cytokine Growth Factor Rev*, 2006)(Cruceriu *et al*, *Cell Oncol*, 2020)や ACE2、間葉系細胞マーカーである Vimentin の遺伝子発現増加を確認した。以上の結果、様々な細胞が存在する腫瘍組織内で、転移性がん細胞が SARS-CoV-2 の影響を受けると、周囲の低転移性がん細胞の悪性化が誘導されるとともに、SARS-CoV-2 細胞内侵入リスクも高まると考えられる。

【考察と展望】

本研究では、SARS-CoV-2 膜タンパク質による乳がん細胞 MCF7 に対する影響を検討した。膜タンパク質によって、MCF7 の細胞運動が促進されることが見出され、この変化は、NF- κ B、JAK-STAT シグナル伝達経路を介している可能性が示唆された。腫瘍組織は様々な細胞から構成されており、MCF7 のように悪性度が低いがん細胞は、膜タンパク質による細胞増殖能、スフェア形成能、*in vivo* における転移能の増加が見られず、十分な悪性化が確認できなかった。しかし、膜タンパク質の影響を受けた悪性度が高い細胞が周囲に存在することで、細胞間コミュニケーションを介したがん細胞の悪性化や、SARS-CoV-2 受容体の増加・炎症反応が引き起こされるものと考えられる。以上より、膜タンパク質は腫瘍内のがん細胞全体へ影響を与え、SARS-CoV-2 感染リスクの増加や症状の重症化、腫瘍進展に寄与することが示唆された。今後は、SARS-CoV-2 膜タンパク質によって誘導された、乳がん細胞における転移能や SARS-CoV-2 感染リスクの増加を抑制する方法を解析する。