

主論文の要約

**Significance of perivascular tumour cells defined by
CD109 expression in progression of glioma**

〔神経膠腫の進展における CD109 陽性血管周囲腫瘍細胞の重要性〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病理病態学講座 腫瘍病理学分野

(指導：高橋 雅英 教授)

白木 之浩

【緒言】

CD109 (図 1) は、GPI アンカー型膜タンパク質であり、2004 年には、様々な腫瘍細胞株に高発現することが示された。その後、扁平上皮癌や尿路上皮癌においては、CD109 の発現と組織学的悪性度の関連が、肝細胞癌、triple-negative 乳癌、肺腺癌等では、CD109 の高発現と患者予後の相関が明らかとなり、CD109 が種々の腫瘍において悪性化・進展に関わる重要な分子であることが示されつつある。CD109 の機能については、TGF- β シグナルを抑制する等の機能や細胞外に分泌されるといった機能は報告されているものの、未だに不明な点が多く、悪性化・進展に関わる詳細な機序はわかっていない。

神経膠腫/膠芽腫は、手術による完全切除が難しく、短期間に再発・進行をすることも稀ではない。特に膠芽腫は化学療法や放射線療法への抵抗性も高いため、生命予後は極めて不良である。治療抵抗性の要因は、腫瘍の不均一性 (heterogeneity) のためと言われ、その説明の一つに腫瘍幹細胞モデルが提唱されており、近年、脳腫瘍幹細胞 (BTSC) が血管周囲等の特殊な微小環境に局在するということや、BTSC の治療抵抗性のメカニズムなどが解明されつつあり、さらに BTSC を治療標的とする試みも進められてきている。しかし、現状では患者予後改善につながるような結果は得られておらず、新しい有効な治療法を見つけることが課題である。

本研究の目的は、神経膠腫/膠芽腫における CD109 の機能的意義を解明することであり、CD109 と BTSC との関連を含めて検討し、CD109 が治療標的に成り得ることを示した。

【方法】

ヒト神経膠腫 (WHO 分類 Grade II/III) のパラフィン包埋組織切片に対し、CD109 の免疫組織化学染色を行い CD109 の高発現群と低発現群に分類し (図 2)、両者の手術後の全生存期間を比較した。また、脳腫瘍マウスモデルと CD109 欠損型マウスを交配することで、CD109 の有無によって、脳腫瘍によるマウスの死亡率の変化や腫瘍の組織像に差があるかどうかを検討した。更に、マウスモデルから BTSC を単離し、CD109 の有無によってその性質に差があるかを比較した。加えて、悪性神経膠腫に一般的に使用される薬剤テモゾロミド (TMZ) を脳腫瘍マウスモデルに投与することで、CD109 がテモゾロミドに対しての治療抵抗性に関わるかどうかを観察した。

【結果】

ヒト神経膠腫 (WHO 分類 Grade II/III) では、CD109 高発現群は低発現群に比べて予後不良であり (図 3)、CD109 の免疫組織化学染色にて血管周囲に陽性像を示す症例が、より悪性度の高い Grade III で多いことが判明した (図 4)。

脳腫瘍マウスモデルにおいてもヒトの組織切片に類似した結果であり、CD109 野生型は、欠損型と比べて腫瘍による死亡率が高く (図 5)、微小血管の増生 (MVP) が存在する悪性度の高い腫瘍を形成する割合が高かった (図 6)。更に、脳腫瘍マウス

モデルにおいても、血管周囲に CD109 の陽性像が観察され、この所見もヒトの組織切片と類似する結果であった（図 7）。

次に、脳腫瘍マウスモデルから単離した BTSC を調べたところ、CD109 野生型由来 BTSC と CD109 欠損型由来 BTSC に幹細胞マーカーである SOX2 の発現や sphere 形成能に有意差はなく、CD109 の有無による幹細胞性（stemness）の違いは明らかではなかった（図 8）。しかし、BTSC と BTSC から分化誘導した細胞（DIFFs）を比較すると BTSC にて CD109 の高発現が観察された（図 8 A）。

CD109 は膜タンパク質であると同時に、分泌されるという特徴があるため、BTSC に CD109 が発現しその分泌タンパク質が周囲の細胞に影響を及ぼしているという可能性を考え、CD109 野生型 BTSC の培養上清と欠損型 BTSC の培養上清を欠損型 DIFFs の培養液に加え比較した（図 9）。すると、野生型の培養上清には DIFFs の増殖を促進する作用が認められた。

最後に、脳腫瘍マウスモデルに対し、テモゾロミドの投与を行った。その結果、マウスの死亡率に有意差はみられず、CD109 野生型の腫瘍の方が欠損型に比べて増殖能マーカー Ki-67 の標識率が減少しており、CD109 野生型で治療効果があるという結果であった（図 10）。しかし、CD109 陽性細胞は、治療後も関わらず残存しており（図 11）、CD109 陽性の腫瘍細胞は、治療抵抗性を示す可能性が示唆された。

【考察】

今回の結果から、ヒトの組織切片及びマウスモデルいずれにおいても、神経膠腫/膠芽腫の血管周囲に CD109 を発現する細胞が存在し、腫瘍の悪性化・進展を促進しているということが示された。更に BTSC に CD109 が発現しており、分泌することで周囲の細胞に影響を及ぼしていると考えられた（図 12）。よって、神経膠腫/膠芽腫の血管周囲に存在する BTSC が CD109 を発現させ、周囲の細胞と相互作用しながら腫瘍を悪性化・進展させていると考えられる。現段階では、CD109 が直接的に周囲の細胞に作用しているのかどうかは不明であり、今後の検討課題である。

近年、BTSC の中でも治療抵抗性が高い・低いものが混在し、幹細胞性と治療抵抗性が必ずしも完全な相関関係にはないという報告があり、BTSC 自体にも多様性があることがわかってきたため、BTSC の治療抵抗性などに関わる因子を個別に検討する必要があると考えられる。その意味では、CD109 が幹細胞性には関与せず、治療抵抗性や腫瘍の悪性化・進展のみに関わるという可能性があるため、今後、詳細な機序の解明を進めていくとともに、CD109 を標的とした治療は、新しい有効な治療法に成り得るためその開発を行っていきたい。

【結語】

神経膠腫/膠芽腫の血管周囲に存在する BTSC が CD109 を発現させ、腫瘍の悪性化・進展を促進しているということが示唆された。