

タイトル:

がん細胞を骨に引き寄せる有害な可溶性タンパク質の発見
～がん骨転移の新たな治療法の開発に期待～

1. 発表者:

浅野 達雄 (東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 免疫学 特任研究員)
岡本 一男 (東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 骨免疫学寄付講座 特任准教授)
高柳 広 (東京大学大学院医学系研究科 病因・病理学専攻 免疫学 教授)

2. 発表のポイント:

- ・RANKL(ランクル)というサイトカイン(注1)は骨と免疫組織の形成に重要ですが、これまで細胞膜結合型と可溶型の二種類の形態が取ることが知られていました。本研究により、可溶型 RANKL は骨と免疫組織形成には必要ではない一方、がん骨転移の悪因として働くことが明らかとなりました。
- ・可溶型 RANKL は悪性黒色腫や乳がん細胞に直接作用して、がん細胞を骨に移動させることで、骨転移を誘導することがわかりました。
- ・本研究により、血中の可溶型 RANKL が、骨転移の発症リスクを予測できるバイオマーカーとしてなり得ることが示されました。また今後、可溶型 RANKL のみを標的とした新たな骨転移の治療アプローチの開発が期待されます。

3. 発表概要: (※ 研究内容を、非専門家に紹介する文章。300～500 文字程度)

骨はがんが転移しやすい部位の一つです。がんが骨に転移すると、激しい骨痛や骨折、麻痺など、がん患者の QOL (生活の質)低下に直結する症状を来し、予後悪化に繋がります。近年免疫チェックポイント阻害剤(注2)の登場により、がん治療は大きな変革期を迎えようとしています。いまだがん骨転移の予防法・治療法は確立できていません。サイトカイン RANKL は破骨細胞(注3)分化の必須因子であり、現在その中和抗体が、骨折などがん骨転移に伴う症状を抑える薬として用いられています。しかしながら、がん細胞が骨に転移するプロセス自体を阻害できる治療法は存在しません。また抗 RANKL 抗体は、転移していない正常な骨の破骨細胞機能も総じて阻害するため、低カルシウム血症等の副作用にも配慮することが必要です。一方、RANKL は細胞膜結合型と可溶型の二種類の形態を取ることが知られていましたが、両者の機能的な違いについてはよく分かっていませんでした。

東京大学医学系研究科 病因・病理学専攻 免疫学分野の浅野 達雄 特任研究員と高柳 広 教授、骨免疫学寄付講座 岡本 一男 特任准教授らの研究グループは、可溶型 RANKL のみを欠損させた遺伝子改変マウスを作製し、膜結合型 RANKL と可溶型 RANKL の生体内における役割の違いについて検討しました。その結果、破骨細胞分化や免疫組織形成には膜結合型 RANKL が中心に働いており、可溶型 RANKL は必要ないことが判明しました。一方で、可溶型 RANKL はがん細胞を骨に引き寄せることで、がん骨の転

移に関与していることが明らかとなりました。本研究成果より、血中の可溶性 RANKL が骨転移の発症リスクを予測できるバイオマーカーとして有用である可能性が示されました。また、可溶性 RANKL を標的とすることで、従来の抗 RANKL 抗体療法よりも副作用の少ない骨転移治療の開発に繋がると期待されます。

本研究は日本学術振興会 科学研究費補助金 特別推進事業、基盤研究Bなどの一環で行われました。

本研究成果は 2019 年 9 月 2 日 (米国東部時間) に国際科学誌「Nature Metabolism」にオンライン版で公開されました。

4. 発表内容: (※ 詳しい発表内容を 1500~2000 字程度 で記載ください)

【研究の背景】

骨は、古い骨が破骨細胞により溶かされ、骨芽細胞(注4)によって新しく骨が作られることで、生涯に亘り新陳代謝され、丈夫な骨が維持されます。破骨細胞は血球系の細胞から分化しますが、その分化には RANKL と呼ばれるサイトカインが必要です。破骨細胞の前駆細胞には、RANKL の受容体である RANK という細胞膜タンパク質が発現しており、RANKL が RANK に結合することで破骨細胞への分化が誘導されます。一方、病気などで RANKL の刺激が過剰になると、破骨細胞による骨の吸収が盛んになり、骨量減少や骨破壊が起きます。こうした現象は、骨粗鬆症や関節リウマチのほか、がんの骨転移で認められます。骨は代表的な転移標的臓器の一つであり、特に乳がん、肺がん、前立腺がん、悪性黒色腫で骨転移の頻度が高いことが知られています。がん細胞は骨に転移すると骨芽細胞に作用して RANKL の発現を高めるため、破骨細胞による骨吸収が亢進し、骨の破壊や脆弱化が起こります。さらに骨は成長因子を豊富に蓄えているため、骨吸収が進むと骨基質から成長因子が放出され、その結果がん細胞がさらに増殖してしまう、という悪循環に陥ります。骨転移が進行すると、激しい骨痛、骨折、麻痺症状など身体活動の低下に直結する諸症状を来します。特に脊椎や大腿骨への転移は、患者の生活に著しい障害を与えます。近年、免疫チェックポイント阻害剤の登場により、がん治療が大きな変革期を迎えていますが、骨転移の制御はいまだ不十分であり、骨転移の予防法・治療法の開発が喫緊の課題です。現在、RANKL を阻害する抗体製剤デノスマブが、骨折などの骨転移に伴う症状を抑える薬として用いられています。しかしながら、がん細胞が骨に転移するプロセス自体を阻害できる治療法は存在しません。また抗 RANKL 抗体は、転移していない正常な骨の破骨細胞機能も総じて阻害するため、低カルシウム血症等の副作用にも配慮することが必要です。

一方、RANKL は破骨細胞分化だけでなく、リンパ節や胸腺といった免疫組織の形成にも大事であることが知られています。したがって、全身で RANKL を欠損させたマウスでは、破骨細胞の欠損により骨量が異常に増加するだけでなく、免疫組織の形成不全も起こることが、過去の研究で明らかにされています。さらに RANKL は膜結合型タンパク質として細胞表面に発現した後、タンパク分解酵素によって細胞外領域が切断されることで、可溶性タンパク質としても産生されることが知られていました (図 1A)。膜結合型 RANKL と可溶性 RANKL のいずれも RANK に結合できますが、破骨細胞分化や免疫組織形成など生体内における多彩な役割に対して、膜結合型と可溶性がどのように使い分けされているのか、よく分かっていませんでした。

【研究成果の概要】

今回、RANKL の細胞外領域にある酵素切断部位を欠失させることで、選択的に可溶性 RANKL を欠損させたマウスを作製し、可溶性 RANKL の生体内の役割を調べました。その結果、可溶性 RANKL を欠損させたマウスでも正常に破骨細胞分化が起こり、野生型マウスと比べて骨量にも差がありませんでした(図 1B,C)。さらにリンパ節や胸腺といった免疫組織の形成も正常でした(図 1D)。従って、破骨細胞分化や免疫組織形成には膜結合型 RANKL が中心に働いており、可溶性 RANKL は必要ないことが判明しました。

次のがん骨転移における可溶性 RANKL の関与を検討するために、マウスの悪性黒色腫もしくは乳がん細胞を用いて、がん骨転移モデルを実施しました。その結果、可溶性 RANKL を欠損させたマウスでは、野生型マウスと比べて、有意に骨転移が抑制されることがわかりました(図 2AB)。しかし、骨転移部の破骨細胞の数には差がありませんでした(図 2C)。したがって可溶性 RANKL は骨転移部においても破骨細胞分化に関与していないことが示されました。乳がんや悪性黒色腫など骨に転移しやすいがん細胞の多くは、それ自身が RANK を発現していることが知られています。他のグループによる過去の研究成果により、こうした RANK を発現するがん細胞は、RANKL の刺激を受け取ることで細胞遊走が促され、その結果 RANKL の濃度勾配に従って一方向的にがん細胞が移動することが報告されています。そこで可溶性 RANKL ががん細胞に直接作用して細胞移動を促すのか検証するために、RANK を欠損させたがん細胞を使用して骨転移モデルを実施したところ、可溶性 RANKL を欠損させたマウスでも野生型マウスでも骨への転移率が低下し、さらに両マウス間では転移率に差はありませんでした。すなわち、可溶性 RANKL は破骨細胞に働きかけるのではなく、がん細胞の RANK に作用することで、骨転移を誘導することが示されました。さらに卵巣や副腎といった骨以外の臓器へのがん転移は、野生型マウスと可溶性 RANKL を欠損させたマウスとで差はありませんでした。身体の中では骨が主要な RANKL の産生臓器であることから、がん細胞は可溶性 RANKL の刺激を受けることで、骨へ引き寄せられ、骨転移が誘導されることがわかりました。

【研究成果の意義】

本研究により、RANKL の膜結合型と可溶性の生体における機能の違いを明らかにしました。骨や免疫組織には可溶性 RANKL は必須ではなく、膜結合型 RANKL による細胞間接触を介した作用が重要であることが判明しました。一方で、可溶性 RANKL はがん骨転移を促す有害なタンパク質として機能することを見出しました。

最近の臨床研究においても、血清中の可溶性 RANKL の濃度が、乳がん細胞の骨髄内播種及び骨転移成立と相関することが報告されています。したがって可溶性 RANKL は、骨転移を予測できる血中バイオマーカーとして有用であることが示唆されます。また可溶性 RANKL が破骨細胞分化には必要ではないことから、可溶性 RANKL のみを選択的に阻害する治療法が開発できれば、抗 RANKL 抗体よりも副作用の少ない骨転移の治療法に繋がるのが期待されます。

5. 発表雑誌:

雑誌名: Nature Metabolism (2019年9月2日米国東部時間)

論文タイトル: Soluble RANKL is physiologically dispensable but accelerates tumour metastasis to bone

著者: Tatsuo Asano, Kazuo Okamoto*, Yuta Nakai, Masanori Tsutsumi, Ryunosuke Muro, Ayako Suematsu, Kyoko Hashimoto, Tadashi Okamura, Shogo Ehata, Takeshi Nitta, Hiroshi Takayanagi*

DOI 番号: 10.1038/s42255-019-0104-1

アブストラクト URL: <https://www.nature.com/articles/s42255-019-0104-1>

6. 注意事項: 日本時間 9 月 3 日 0 時 (ロンドン時間 9 月 2 日 16 時) 以前の公表は禁じられています。

7. 問い合わせ先:

東京大学大学院医学系研究科 免疫学

高柳 広

TEL: 03-5841-3373

FAX: 03-5841-3450

E-mail address: takayana@m.u-tokyo.ac.jp

8. 用語解説:

(注 1) サイトカイン:

細胞から放出されるタンパク質であり、細胞間の情報伝達に関わる。

(注 2) 免疫チェックポイント阻害剤:

私たちの身体の中では、免疫機能が不必要に働かないように免疫を抑制する仕組みを持っている。免疫チェックポイント分子と呼ばれる細胞膜タンパク質は、T 細胞の活性化を抑えることで、過剰な免疫反応を抑える働きを持っている。一方、がん細胞は免疫チェックポイント分子を活用することで、免疫系による攻撃から逃れることができる。免疫チェックポイント阻害剤は、こうした免疫チェックポイント分子を阻害する薬であり、T 細胞の活性化抑制を解除することで、がん細胞に対する免疫反応を引き起こす。PD-1 と CTLA-4 は代表的な免疫チェックポイント分子であり、その発見と抗体医薬の開発に貢献した本庶佑博士とジェームズ・P・アリソン博士は 2018 年ノーベル生理学・医学賞を受賞した。

(注 3) 破骨細胞:

単球/マクロファージ系前駆細胞由来の多核巨細胞であり、生体で骨を吸収する主要な細胞。破骨細胞は骨表面に接着し、カテプシン K やマトリックスメタロプロテアーゼなどの基質分解酵素と酸を放出することで骨基質を分解する。

(注 4) 骨芽細胞:

骨形成を担う間葉系幹細胞由来の細胞。骨芽細胞は骨基質表面で I 型コラーゲンなどの骨基質タンパク質からなる類骨を形成し、基質小胞とアルカリフォスファターゼを分泌することで類骨を石灰化し、骨を形成する。

9. 添付資料:

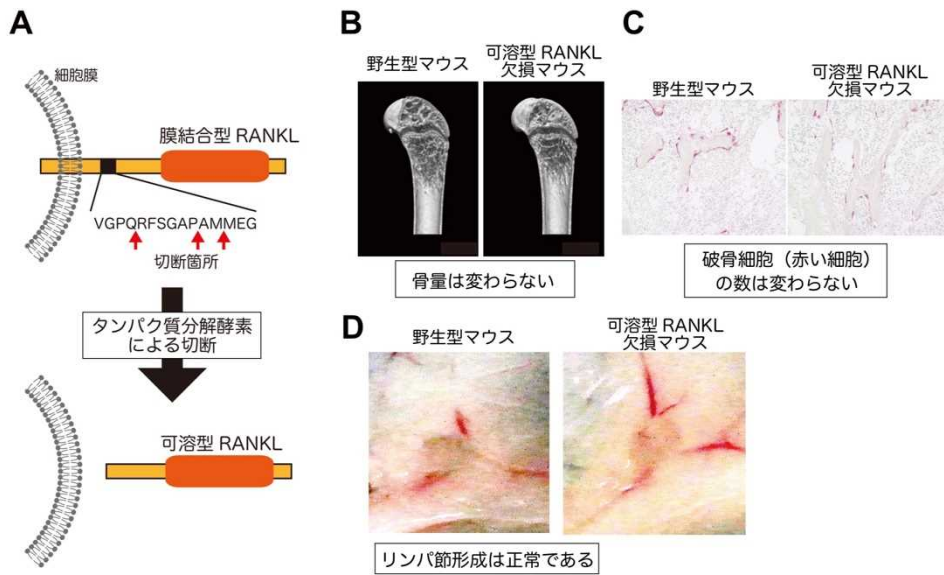


図 1 可溶性 RANKL は破骨細胞分化や免疫組織形成には必須ではない。

(A)細胞膜上に発現した膜型 RANKL はタンパク質分解酵素によって切断されて、可溶性 RANKL として分泌されます。(B-D) 野生型マウスと可溶性 RANKL 欠損マウスにおける骨とリンパ節の解析。(B) 右足大腿骨の骨量、(C) 右足頸骨における破骨細胞骨の数、(D) 鼠径部のリンパ節形成。いずれにおいても、野生型マウスと可溶性 RANKL 欠損マウスとは差を認めませんでした。

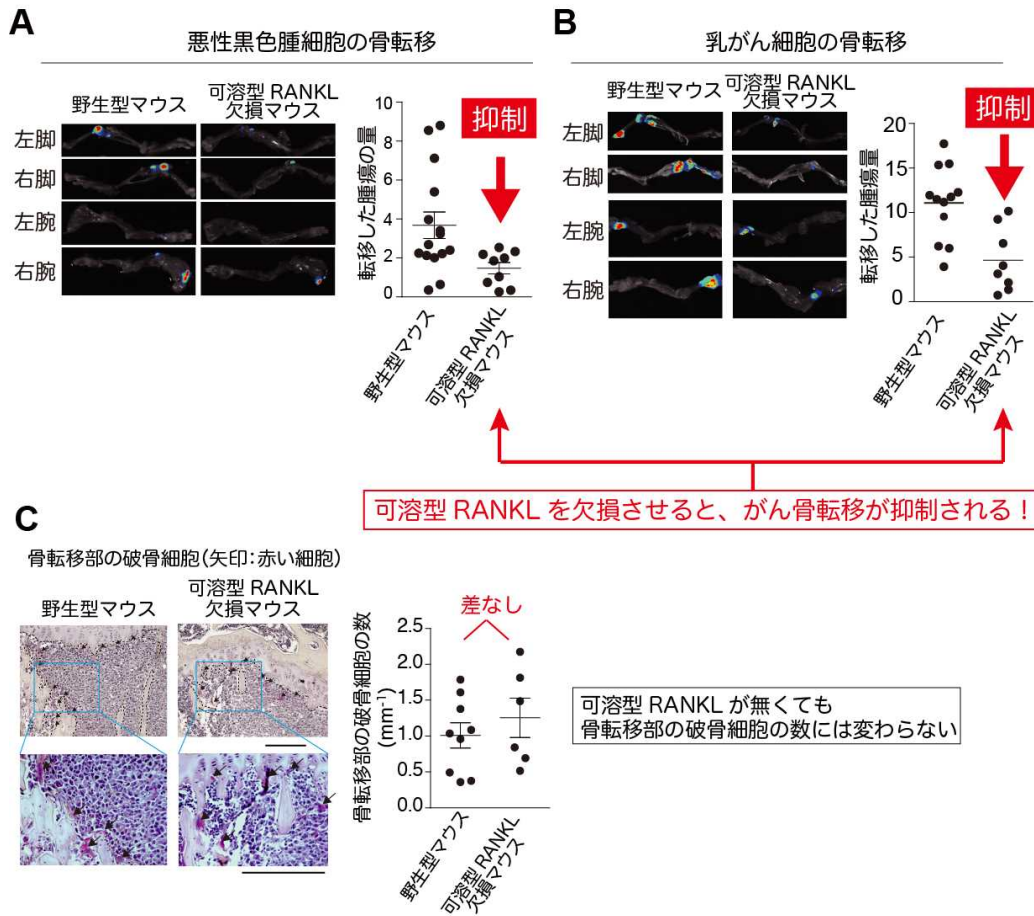


図 2 可溶性 RANKL はがん骨転移を促進する。

(A、B) 発光する悪性黒色腫細胞(A)もしくは乳がん細胞(B)を用いて、マウスのがん骨転移モデルを実施しました。発光の強さは腫瘍の量を示します。四肢の長管骨への転移を比較したところ、可溶性 RANKL 欠損マウスでは転移が抑制されていました。(C)乳がん細胞の骨転移部における破骨細胞(矢印:赤い細胞)の数を評価しました。可溶性 RANKL を欠損させたマウスでも、骨転移部の破骨細胞の数に変化はありませんでした。



図 3 可溶性 RANKL はがん細胞に直接働きかけて、骨への細胞移動を引き起こす
 骨では、主に骨芽細胞や骨細胞(骨芽細胞の最終分化した細胞であり、骨の中に埋没している)が RANKL を産生していることが知られています。骨から産生された可溶性 RANKL は、がん細胞に直接働きかけて、がん細胞を骨へ引き寄せることで、骨転移を誘導することがわかりました。一方、破骨細胞分化には、可溶性 RANKL ではなく、膜型 RANKL が中心となって働くこともわかりました。