

# Mechanism of metastasis and new treatment development in sarcoma

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-01-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Higuchi, Takashi メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00060339">https://doi.org/10.24517/00060339</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



【総説】

第1回 十全医学奨励賞受賞論文

論文 肉腫の転移浸潤メカニズムの解明と新規治療の開発  
Mechanism of metastasis and new treatment development in sarcoma

樋口 貴史 (ひぐち たかし)

はじめに

肉腫 (sarcoma) は骨や筋肉, 神経, 血管などの非上皮細胞に発生する悪性腫瘍で, 希少がん該当する。その組織型は50種以上になり, 全身どこにでも発生し, 小児から高齢者まで年齢を問わず発生するため, 多種多様な臨床像を呈する。術前後の化学療法と外科的切除で治療することが一般的だが, 標準の化学療法に抵抗した場合や, 転移や再発のある進行例では予後が不良となることが多い。肉腫は多様性のある希少がんであるため, 分子標的薬や免疫療法の開発に伴い治療成績が向上しているメジャーな癌とは違い, 新規治療の開発が進行せず, 使用可能な化学療法が少ないことが問題である。また, 肉腫は癌よりも増殖が緩徐であることが多く, 転移を制御することが, 肉腫患者の予後を左右する重要な鍵となりうるが, 肉腫では, 細胞の増殖や転移のメカニズムが十分に明らかにされていない。本稿では, 我々が肉腫に対する新規の治療標的や増殖・転移メカニズムを解明すべく行ってきた研究の中で, ドラッグリポジショニングを活用した治療法の開発や患者由来組織を使用した動物モデルによる解析について概説する。

1. 非ステロイド性抗炎症薬による PPAR $\gamma$ 活性化と軟骨肉腫に対する抗腫瘍効果の解析

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR $\gamma$ ) は, 主に脂肪細胞で発現し, 脂肪分化の制御に中心的な役割を果たす転写因子である<sup>1)</sup>。一方, 悪性腫瘍でも PPAR $\gamma$ の発現亢進を認めることから, 乳癌や大腸癌において, PPAR $\gamma$ を標的とした治療の可能性が報告されている<sup>1)</sup>。骨軟部腫瘍領域においても軟骨肉腫や骨肉腫, 脂肪肉腫で PPAR $\gamma$ のリガンド処理による抗腫瘍効果の可能性が報告されている<sup>1),2)</sup>。PPAR $\gamma$ のリガンドにはチアゾリジン誘導体や一部の非ステロイド性抗炎症薬 (non-steroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs) がある。

我々はNSAIDsの一つである zaltopfen に強い PPAR $\gamma$ 活性化能を有することを見出した<sup>1)</sup>。また軟骨肉腫細胞において, zaltopfen が PPAR $\gamma$ の発現を誘導することを明らかにし<sup>1)</sup>, その誘導のメカニズムとして, zaltopfen が PPAR $\gamma$ の上流転写因子である C/EBPs を誘導することを見出した (図1)。軟骨肉腫は化学療法や放射線療法が無効であるため, 切除困難な場合や, 転移や再発を認めた場合に, 有効な治療法がなくなってしまうことが問題で

ある。近年, 軟骨肉腫において PPAR $\gamma$ が有用な治療標的になる可能性が報告されたが, その効果やメカニズムは十分に明らかになっていない<sup>2)</sup>。我々は軟骨肉腫細胞に対して zaltopfen による PPAR $\gamma$ を標的にした抗腫瘍効果を解析し, zaltopfen が PPAR $\gamma$ 依存性に軟骨肉腫細胞の増殖能, 浸潤能, 遊走能を抑制することを明らかにした<sup>1)</sup>。さらに zaltopfen が, がん抑制タンパクである p21, p27, p53 を PPAR $\gamma$ 依存性に誘導し, 細胞周期を抑制することで増殖能を抑制することを見出した (図1)。また, *in vivo*においても, 軟骨肉腫マウスモデルに対して, zaltopfen を投与した群で有意に腫瘍増殖が抑制され, 腫瘍壊死を認めることを明らかにした。細胞浸潤・遊走能の抑制メカニズムとして, zaltopfen が PPAR $\gamma$ 依存性に matrix metalloproteinase-2 (MMP2) の分泌を抑制することを見出した (図1)<sup>1)</sup>。MMP2 は癌細胞の基底膜破壊や浸潤過程に関与する酵素であるが, MMP2 の発現が軟骨肉腫細胞の遊走・浸潤に関わることは, これまでに報告されておらず, その重要性とその上流で PPAR $\gamma$ が関与していることを初めて明らかにした<sup>1)</sup>。以上より, 軟骨肉腫において, PPAR $\gamma$ を標的とした抗腫瘍効果やそのメカニズムを解析することで, PPAR $\gamma$ や MMP2 が軟骨肉腫に対する新たな治療標的となる可能性や, zaltopfen が効果的に PPAR $\gamma$ を誘導・活性化し, 軟骨肉腫の増殖や浸潤を抑制する有効な治療薬となる可能性を明らかにした<sup>1)</sup>。

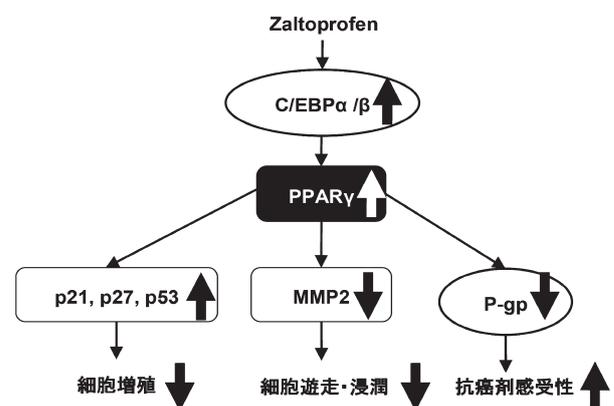


図1. 肉腫における zaltopfen による PPAR $\gamma$ を介した抗腫瘍効果のメカニズム

## 2. PPAR $\gamma$ アゴニストによる骨肉腫の治療抵抗性の改善効果の解析

骨肉腫は1番多い原発性悪性骨腫瘍であるが、その発生数は本邦において年間200人前後に過ぎず、新規治療の開発が進まないため、今でも使用可能な薬剤はcisplatin, doxorubicin, ifosfamide, methotrexateに限られている。また、これらの薬剤の効果が乏しい場合や再発・転移を認める例では、セカンドラインの薬剤がなく、予後は不良である<sup>3)</sup>。治療抵抗性の骨肉腫の患者由来組織同所移植モデルを用いた解析で、PPAR $\gamma$ のアゴニスト (pioglitazone) を標準治療薬のdoxorubicinに併用することで、腫瘍増殖を有意に抑制し、骨肉腫の薬剤耐性を克服する可能性を見出した<sup>6)</sup>。また、PPAR $\gamma$ アゴニストによる薬剤感受性増加の機序として、PPAR $\gamma$ アゴニストがP糖タンパク質 (P-glycoprotein: P-gp) の発現を抑制する可能性を明らかにした (図1)<sup>4)</sup>。P-gpは薬剤耐性ががん細胞に高発現する細胞膜タンパクとして発見された薬剤耐性化機構の一つで、ATPの加水分解エネルギーを利用し、基質薬物を細胞内から細胞外へ汲み出す役割を担っている。骨肉腫においも、P-gpの発現が転移や予後と相関することが報告されている<sup>5)</sup>。これまで卵巣癌などにおいて、PPAR $\gamma$ アゴニストがP-gpのdownregulationを介して、薬剤抵抗性を改善したとの報告はあるが、肉腫においてPPAR $\gamma$ アゴニストがP-gpの発現を抑制することは報告されていない。また、PPAR $\gamma$ 活性化がP-gpに作用するメカニズムについては十分に明らかにされておらず、さらなる解析が必要と考える。

## 3. ドラッグリポジショニングによる新しい肉腫治療薬の開発

ZaltoprofenのようにPPAR $\gamma$ を活性化する薬剤は、糖尿病治療薬やNSAIDsとして広く臨床で使用されており、その安全性が既に証明されているため、臨床への応用が期待できる。新規の薬剤開発が進まない希少がんにおいて、このように、既存の薬剤を転用し、新たな疾患の治療薬として開発するドラッグリポジショニングの研究が関心を集めている。我々は、既存薬の中から肉腫に有効な治療薬を見出し、ドラッグリポジショニングにより新しい治療法を確立することを目指して、骨肉腫や軟部肉腫

の患者由来組織をマウス的大腿骨や大腿二頭筋に同所性移植する方法を考案し、肉腫の患者由来組織同所移植モデルを樹立した (図2)<sup>6)</sup>。従来の皮下腫瘍モデルはモノクローナルな細胞の集塊になってしまうが、腫瘍組織を移植したモデルではヘテロな細胞集団を再現できる。また、皮下移植では増殖が緩徐で転移を認めない場合でも、腫瘍本来の臓器に同所性移植すると、元の悪性度を反映するように増殖し、転移を観察できることから、腫瘍組織を同所性移植することで、腫瘍の微小環境も再現することができると考えられている<sup>7)</sup>。患者由来組織同所移植モデルは腫瘍の組織学のおよび遺伝学的特性を移植後も保有し、オリジナルの微小環境を再現できるため、従来の動物モデルと比較して、薬剤の治療効果の予測能が高く、研究結果が臨床に直結しやすいと考えられる。

Olaratumabは血小板由来成長因子受容体 $\alpha$  (platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$ : PDGFR $\alpha$ ) に対する抗体で、肉腫に対する初めてのモノクローナル分子標的薬である。適切な薬剤が不足している進行軟部肉腫治療において、2016年に第2相臨床試験の結果からdoxorubicin単剤と比較し、olaratumabとdoxorubicinの併用が有意に予後を改善したことから、olaratumabが欧米で進行軟部肉腫の新薬として迅速承認された。しかし、その後の第3相試験でdoxorubicin単剤と比較し、olaratumab併用の優位さを立証できなかったため、2019年に肉腫治療における承認を取り消されていた。しかしながら、olaratumabの毒性の低さや他の化学療法薬との相乗効果の可能性を示した基礎研究の結果をもとに、olaratumabとdoxorubicin以外の薬剤との併用療法の有用性が期待されている<sup>8)</sup>。我々は、代表的な軟部肉腫である未分化多形肉腫の患者由来組織同所移植モデルを用いて、軟部肉腫の標準化学療法レジメンであるdoxorubicin-ifosfamide (AI療法) やgemcitabine-docetaxel (GD療法) とolaratumabとの併用療法の有用性を検討した結果、AIやGD単独では治療抵抗性であった腫瘍において、olaratumabを併用すると腫瘍の増殖が停止し、病理切片で壊死や増殖マーカー (Ki-67) 陽性細胞の有意な低下を認めた<sup>9),10)</sup>。Olaratumabを用いた併用療法については、2020年現在、olaratumabとGD療法との併用療法の臨床試験が、開発元を中心に行

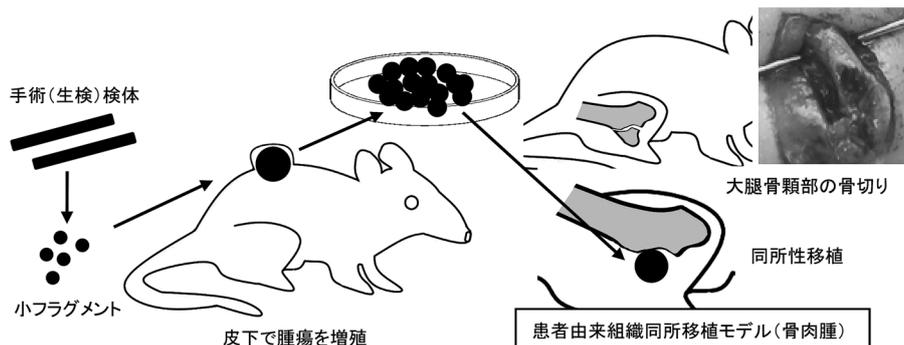


図2. 患者由来組織同所移植モデル (骨肉腫) 作成のシェーマ

われている途中だが、基礎研究でその有効性を示した報告は初めてである。

#### おわりに

我々は、肉腫における新しい治療法の開発を目指して、既存薬の中から肉腫に有効な薬剤を見出し、基礎的な解析と患者由来組織同所移植モデルを用いた解析を積極的に行ってきた。本稿では、PPAR $\gamma$ が有効な治療薬のない軟骨肉腫や薬剤耐性骨肉腫に対して新しい治療標的となる可能性や、PPAR $\gamma$ 活性化がMMP2やp21, p27, p53などががん抑制タンパク、P-gpの発現に作用する抗腫瘍メカニズムについて概説した。PPAR $\gamma$ を活性化するzaltoprofenなどの薬剤は既に他の疾患治療で臨床応用されており、ドラッグリポジショニングすることで臨床応用に繋がれると期待している。本稿ではさらに、大規模臨床試験の結果から承認を取り消されていたolaratumabの肉腫に対する潜在的な治療効果に着目し、標準レジメンにolaratumabを併用する新しい治療戦略の可能性を見出し、患者由来組織同所移植モデルを用いて、その有用性を明らかにした。患者由来組織同所移植モデルは薬剤の治療効果の予測能が高く、新しい治療薬が開発されにくい腫瘍において、有効な薬剤を見出すために有用であり、我々は、ほかにも肉腫に対して有効な薬剤を見出し、これまでに報告してきた。我々の研究が、希少がんであるがゆえに30年以上も治療法が変わっていない肉腫治療において、新しい治療戦略を生み出すことに繋がると期待している。

#### 謝辞

第1回十全医学奨励賞の受賞にあたり、選考委員の先生方や十全医学会の運営に携わられている関係者の皆様方に、心より感謝申し上げます。本研究を行うにあたりまして、入局以来現在に至るまで、臨床と基礎の多くをご指導賜りました金沢大学整形外科土屋弘行教授をはじめ、同教室の先生方、大学院時代に基礎研究のご指導賜りました金沢大学血管分子生物学山本靖彦教授や同教室の先生方、留学中の研究のご指導を賜りましたカリフォルニア大学サンディエゴ校のRobert M. Hoffman教授、そして日々の診療や研究に大きなご協力やご指導を頂いている金沢大学整形外科同門の先生方や教室スタッフの方々に対しまして、この場を借りて深く御礼申し上げます。

#### 参考文献

1) Higuchi T, Takeuchi A, Munesue S, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Inatani H, Shimozaki S, Kato T, Aoki Y, Abe K, Taniguchi Y, Aiba H, Murakami H, Harashima A, Yamamoto Y, Tsuchiya H. Anti-tumor effects of a nonsteroidal anti-inflammatory drug zaltoprofen on chondrosarcoma via activating peroxisome

proliferator-activated receptor gamma and suppressing matrix metalloproteinase-2 expression. *Cancer Med* 7: 1944-1954, 2018

2) Nishida K, Kunisada T, Shen ZN, Kadota Y, Hashizume K, Ozaki T. Chondrosarcoma and peroxisome proliferator-activated receptor. *PPAR Res* 2008:250568, 2008

3) Tsuchiya H, Kanazawa Y, Abdel-Wanis ME, Asada N, Abe S, Isu K, Sugita T, Tomita K. Effect of timing of pulmonary metastases identification on prognosis of patients with osteosarcoma: the Japanese Musculoskeletal Oncology Group study. *J Clin Oncol* 20: 3470-3477, 2002

4) Higuchi T, Sugisawa N, Miyake K, Oshiro H, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Igarashi K, Kline Z, Bouvet M, Singh SR, Tsuchiya H, Hoffman RM. Pioglitazone, an agonist of PPAR $\gamma$ , reverses doxorubicin-resistance in an osteosarcoma patient-derived orthotopic xenograft model by downregulating P-glycoprotein expression. *Biomed Pharmacother*: 109356, 2019

5) Gao Y, Liao Y, Shen JK, Feng Y, Choy E, Cote G, Harmon D, Mankin HJ, Hornicek FJ, Duan Z. Evaluation of P-glycoprotein (Pgp) expression in human osteosarcoma by high-throughput tissue microarray. *J Orthop Res* 34: 1606-1612, 2016

6) Igarashi K, Kawaguchi K, Murakami T, Miyake K, Kiyuna T, Miyake M, Hiroshima Y, Higuchi T, Oshiro H, Nelson SD, Dry SM, Li Y, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Singh SR, Tsuchiya H, Hoffman RM. Patient-derived orthotopic xenograft models of sarcoma. *Cancer Lett* 469: 332-339, 2020

7) Hoffman RM. Patient-derived orthotopic xenografts: better mimic of metastasis than subcutaneous xenografts. *Nat Rev Cancer* 15: 451-452, 2015

8) Xu J, Xie L, Guo W. PDGF/PDGFR effects in osteosarcoma and the "add-on" strategy. *Clin Sarcoma Res* 8: 15, 2018

9) Higuchi T, Miyake K, Sugisawa N, Oshiro H, Zhang Z, Razmjooei S, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Igarashi K, Bouvet M, Singh SR, Tsuchiya H, Hoffman RM. The combination of olaratumab with gemcitabine and docetaxel arrests a chemotherapy-resistant undifferentiated soft-tissue sarcoma in a patient-derived orthotopic xenograft mouse model. *Cancer Chemother Pharmacol* 83: 1075-1082, 2019

10) Higuchi T, Miyake K, Sugisawa N, Oshiro H, Zhang Z, Razmjooei S, Yamamoto N, Hayashi K, Kimura H, Miwa S, Igarashi K, Bouvet M, Singh SR, Tsuchiya H, Hoffman RM. Olaratumab combined with doxorubicin and ifosfamide overcomes individual doxorubicin and olaratumab resistance of an undifferentiated soft-tissue sarcoma in a PDOX mouse model. *Cancer Lett* 451: 122-127, 2019



#### Profile

##### 略歴

2009年 金沢大学医学部医学科卒業  
 2011年 金沢大学整形外科入局  
 2016年 日本整形外科学会整形外科専門医  
 2017年 University of California, San Diego (UCSD) 客員研究員  
 2018年 金沢大学大学院 医学博士課程修了  
 2020年～金沢赤十字病院整形外科副部長 金沢大学医学系協力研究員