

# 分子標的薬による悪性肺がん細胞出現メカニズム

金沢大学がん進展制御研究所

笠原 敦子

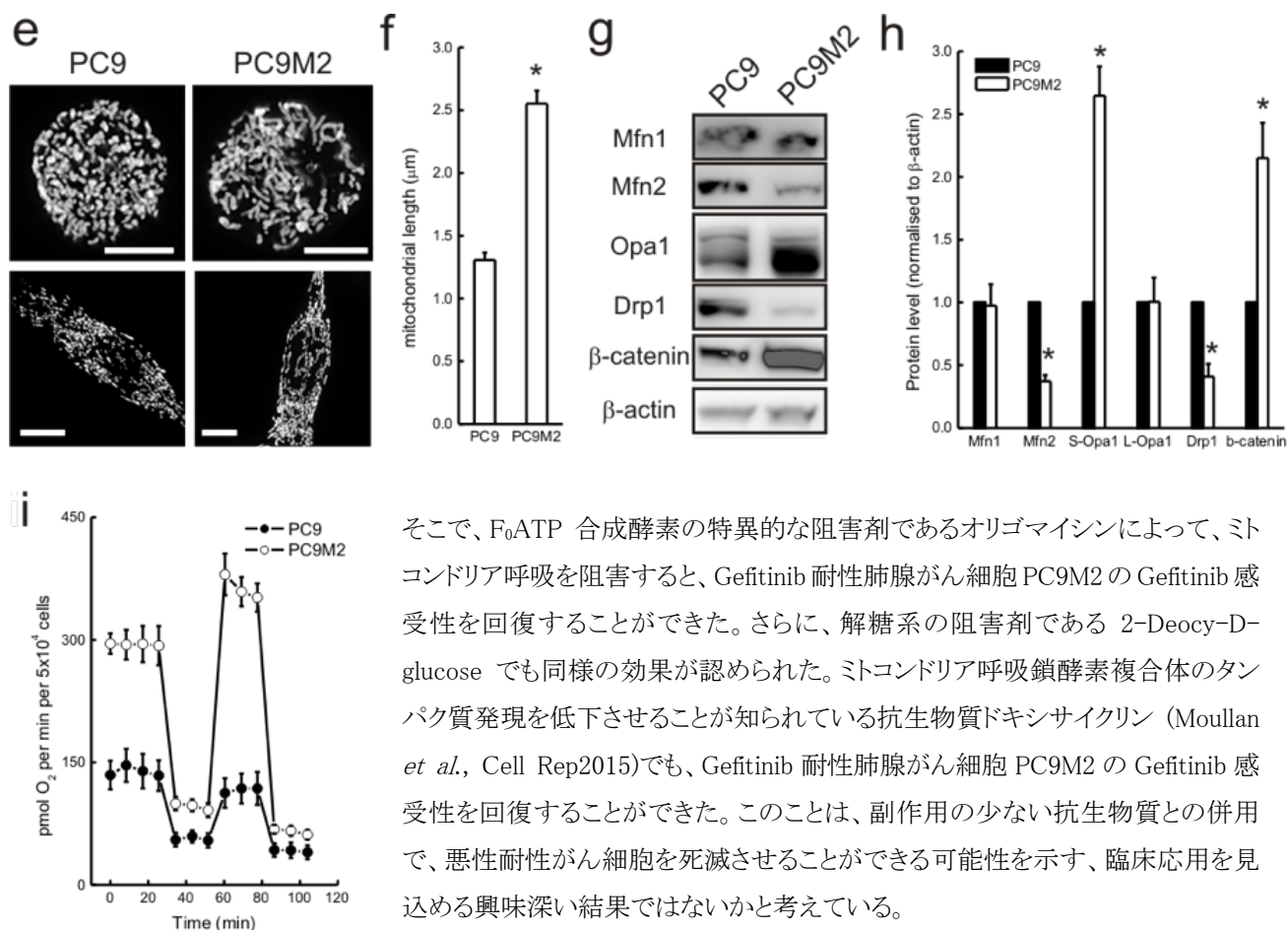
ミトコンドリアは、エネルギー供給、アポトーシス、カルシウム、代謝制御など非常に多岐にわたる生命現象に深く関わるため、細胞の生死を握るオルガネラと言っても過言ではない。これらミトコンドリアの多面的な機能はその非常に動的な形態・構造に由来している。そして、ミトコンドリアは絶えず融合・分裂を繰り返すことで、その品質管理、細胞内局在、サイズ、運動性を細かく調節している。複雑なミトコンドリアの構造は、内膜に局在する dynamin-like GTPase optic atrophy 1 (OPA1) と、外膜に局在する dynamin-like GTPases mitofusin (MFN) 1, 2 が融合を、細胞質の dynamin-related protein 1 (DRP1)が分裂を制御することにより、調節、維持されている (Kasahara and Scorrano, Trends Cell Biol 2014)。絶え間ないミトコンドリアの融合と分裂が、その複雑なネットワーク構造を作り出しているわけだが、細胞の種類や生理状態に応じて、その構造は大きく変化する。例えば、幹細胞は主にそのエネルギーを解糖系に依存しているため、ミトコンドリアは分化した細胞に比べ、未成熟なネットワーク構造であり、またクリステ構造も発達していない。また、飢餓状態にある細胞のミトコンドリアは生存のために長く伸び、アポトーシスで死にゆく細胞のミトコンドリアは断片化している。一方で、高転移性の乳がん細胞では、低転移性の細胞に比べミトコンドリアは断片化し、分裂因子 Drp1 を発現低下させると、転移能が失われることが報告されている (Zhao *et al.*, Oncogene 2013)。また、グリオーマの腫瘍形成能を有する細胞集団は、そうでない細胞集団に比べてミトコンドリアは断片化しており、分裂因子 Drp1 の発現も上昇している (Xie *et al.*, Nat Neurosci 2015, Bassoy and Kasahara *et al.*, EMBO J 2017)。したがって、ミトコンドリアの形態はいかなる細胞にとっても意味があり、それはがん細胞の悪性形質においても例外ではないようである。

肺がんは主要五大がんのひとつであり、高い致死率を示す疾患である。肺がんの大部分を占める非小細胞肺がんの10-15%に上皮成長因子受容体 (EGFR) の変異が認められ、重要な発がんドライバー遺伝子として知られている。そのため、分子標的薬である EGFR 阻害剤が開発され、多くの患者に福音を与えたが、その耐性が深刻な問題として浮き彫りになった。これまで精力的に治療耐性機構が解明され、第二、第三世代の EGFR 阻害剤が開発されてきたが未だに治療耐性の問題は解決されておらず、その克服は、重要な研究課題といえる。本研究では、申請者がこれまでに積み重ねてきたミトコンドリアの形態やその機能に関する研究を、肺がんに関連することで、新たな分子標的薬耐性機構を見出し、この深刻な問題の克服に挑戦した。

これまでに、肺腺がん細胞で、ミトコンドリア融合因子 Opa1 の発現上昇はシスプラチン耐性を上昇させ (Fang *et al.*, Hum Pathol 2012)、またミトコンドリア融合因子 Mfn2 の発現上昇が肺腺がん患者検体から認められ、Mfn2 の発現低下は肺腺がん細胞の増殖や浸潤を低下させることが報告されている (Lou *et al.*, Med Oncol 2015)。したがって、肺腺がん細胞の悪性形質とミトコンドリア融合因子の発現が関連していることから、ミトコンドリア動態が腺がん細胞の悪性形質獲得や維持に関与している可能性がある。

Gefitinib は非小細胞肺がんによく用いられる抗がん剤であり、変異型 EGFR のチロシンキナーゼ活性を阻害することで、非小細胞肺がんの増殖停止や細胞死を引き起こす。Gefitinib 耐性肺腺がん細胞 PC9M2 は、Gefitinib 感受性細胞 PC9 から単離され、ベータ-カテニンの蓄積が報告されている (Sci Rep 2015)。Gefitinib 耐性肺腺がん細胞 PC9M2 は Gefitinib 感受性肺腺がん細胞 PC9 に比べて、ミトコンドリアは長く伸びた構造を示し (Fig. e, f)、それはミトコンドリア分裂因子 Drp1 の発現低下 (Fig. g, h)を伴っていた。ミトコンドリア融合因子 Opa1 は、クリステ構造を制御

することにより、チトクロム c 放出を調節し、抗アポトーシス因子としても知られている (Frezza *et al.*, Cell 2006)。Gefitinib 耐性肺腺がん細胞 PC9M2 において、ミトコンドリア融合因子 Opa1 が過剰に発現上昇しており、実際、PC9M2 は Gefitinib 感受性肺腺がん細胞 PC9 に比べ、内在的アポトーシス誘導剤スタウロスポリンや過酸化水素、また Gefitinib によってアポトーシスが誘導されなかった。また、興味深いことに、Gefitinib 耐性肺腺がん細胞 PC9M2 は、その酸素消費量が Gefitinib 感受性肺腺がん細胞 PC9 のほぼ 2 倍になっていた (Fig. i)。さらに、透過型電子顕微鏡によって、ミトコンドリアの微細構造を観察すると、Gefitinib 耐性肺腺がん細胞 PC9M2 では異常なネット状に絡み合うようなクリステ構造をもつミトコンドリアの割合が、Gefitinib 感受性肺腺がん細胞 PC9 に比べ上昇していた。



以上から、Gefitinib 耐性肺腺がん細胞 PC9M2 は、ミトコンドリアを長く伸ばし、クリステ構造を異常に複雑にすることで、アポトーシス耐性となり、またミトコンドリア呼吸を上昇させることで、増殖速度をあげ、Gefitinib への耐性を維持していることが示唆された。一方で、発現上昇が認められた Opa1 の発現を低下させることでも、Gefitinib 耐性肺腺がん細胞 PC9M2 の Gefitinib 感受性をやや回復することができたが、長期 Opa1 発現低下により、もともと発現が上昇していたベータ-カテニンの発現がさらに代償的に上昇してしまうことを観察している。現在これらの結果をまとめた論文を準備中であり、Gefitinib 耐性維持にミトコンドリア動態・機能が直接関与していることを示すことができた。

今後は、Gefitinib 耐性獲得過程で、どのような上流因子(がん遺伝子)の変化が、ミトコンドリアの形態・機能を変化させているのかを明らかにすることで、耐性細胞が出現する前に、分子標的薬投与の継続を停止する目安となるようなバイオマーカーの発見に繋がることを期待される。