



<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>

第 16 回日本乳癌学会学術総会

乳癌の骨転移治療の鍵を握る骨環境の解明

—骨転移以外の転移にもビスホスホネートが効く可能性—

罹患数が今後も増加することが予測されている乳癌は、高頻度かつ選択的に骨に転移する。骨転移のメカニズムの解明が進展してきた。



9月26日、27日に大阪市で開催された第16回日本乳癌学会学術総会では、大阪大学大学院歯学研究科生化学講座教授でテキサス大学サンアントニオ校医学部内分泌代謝部門客員教授も務める米田俊之氏が「骨環境と乳がん」と題して教育講演を行い、解明されつつある骨転移のメカニズムを解説した。

骨痛による QOL 低下で二次的に生存率が低下

癌の遠隔転移には一定のパターンがあり、現在日本で発生率が増加している乳癌、前立腺癌、肺癌では骨転移の頻度が高い。

骨転移には様々なタイプがあるが、乳癌の骨転移で最も多いのは骨痛が強い溶骨型。ほかには、造骨型、混合型、骨梁間型がある。骨転移は骨痛に加えて、高カルシウム血症、病的骨折、神経の圧迫を発生しやすくし、患者の QOL に大きなダメージを与える。米田氏は「乳癌の骨転移が生存率に直接影響することはないが、QOL を損なうことで二次的に生存率を低下させる。骨転移の管理は臨床的に重要」と話した。

癌細胞は骨髄中で活性化され、転移能を高める

骨転移を適切に管理するためには、骨環境を理解する必要がある。米田氏は、骨転移と骨環境との相互関連について、次のように説明した。

骨転移のステップとして、まず癌の原発巣から血管新生が起こり、癌の増殖が促進されるとともに、血管内に浸潤した癌細胞は標的臓器である骨に到達する。骨に分布する動静脈で骨転移に関与する最も重要な血管は栄養動静脈である。骨膜上を走行し、皮質骨を通



<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>

過して骨髓に入る栄養動静脈が走行する部位すべてに骨転移が発生する可能性があるが、特に多く転移が発生するのは骨髓である。乳癌の早期で骨髓に到達した癌細胞はすぐに骨破壊を起こすことはないが、何らかの機転により活性化されて骨破壊が突然起こる。この段階で初めて臨床的に骨転移が認められる。

破骨細胞が放出する増殖因子が癌細胞に作用？

骨髓中には血液幹細胞と間葉系幹細胞の 2 種の幹細胞が存在する。血液幹細胞は特殊な刺激が加わると破骨細胞に分化する。間葉系幹細胞は骨髓ストローマ細胞の前駆細胞であり、特殊な刺激によって骨芽細胞に分化する。生理的状況下では破骨細胞が骨を吸収する際に骨に蓄積されているトランスフォーミング増殖因子 β (TGF β) やインスリン様増殖因子 (IGF) などの増殖因子を掘り起こして骨髓中に放出し、それらの増殖因子は骨芽細胞の骨形成に利用される。正常な状態では骨破壊と骨形成がバランスを保った状態で、骨のリモデリングが行われる。

破骨細胞の分化には前駆細胞に発現する NF- κ B 活性化受容体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ; RANK) と骨芽細胞に発現する NF- κ B 活性化受容体リガンド (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand ; RANKL) の関係の維持が必要であり、破骨細胞と骨芽細胞は常に密接な関係を保つ。

骨転移では、このリモデリングのバランスが完全に破壊される。骨髓中に運ばれた癌細胞は最初は転移能力の低い幹細胞であるが、ストローマ細胞ニッチ、骨芽細胞ニッチ、破骨細胞ニッチの中に取り込まれ、何らかのメカニズムにより転移能を獲得すると考えられる。米田氏は特に破骨細胞ニッチを重要と考えており、「骨髓中に放出された TGF β や IGF が癌幹細胞に何らかの形で作用し、癌細胞の表現型を変えるのではないかと推測した。

破骨細胞を阻害すると、癌細胞の転移能獲得も阻害できる

そこで米田氏らは、「破骨細胞による骨吸収を促進すれば、癌幹細胞は転移性が高い細胞に変化し、骨転移が発生するのではないかと考え、証明する実験を試みた。実験では、破骨細胞の形成と破骨細胞による骨吸収を促進する RANKL をマウスの頭部皮下に複数回注射し、あらかじめ骨吸収を促進。対照のマウスにはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を注射した。



<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>

その後、癌細胞を注射し、4 週後の骨転移の状態を比較すると、RANKL を注射したマウスでは溶骨型の骨転移が多数認められ、対照では骨転移は認められなかった。RANKL を注射したマウスに、RANKL を阻害する天然の阻害物質であるオステオプロテグリン (OPG) を同時に投与すると、溶骨型の骨転移はほとんど発生しなかった。骨吸収を阻害すると骨転移も阻害できるというこの結果は、ビスホスホネート (BP) などの破骨細胞阻害剤を用いて骨転移を阻害する根拠の一つになると考えられた。

米田氏はさらに実験を展開し、骨転移を発生した骨で優位に認められる増殖因子は IGF であることも見出した。IGF は癌細胞に作用すると癌の増殖を促進し、アポトーシスを抑制して癌細胞数を増加させ、増殖した癌細胞は自らの表現型を変化させていく。

一方、 $TGF\beta$ の影響を受けた癌細胞は、破骨細胞を強く促進する副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP) を産出する。この蛋白は乳癌患者に多くみられ、PTHrP の中和抗体を投与すると破骨細胞が活性化されず、骨転移が抑制されるとの結果も得られている。

また、固形がんでは中央部が低酸素状態となることが知られ、乳癌では酸素濃度は 1.3% 程度となる。このような低酸素状態は、癌の再発・局所浸潤・遠隔転移に関与し、血管新生を促進し、放射線療法および化学療法への抵抗性を出現させるといわれている。このような抵抗性が発現するメカニズムには、低酸素誘導因子 (HIF-1 α) の産出が関与する。動物実験では、骨転移で骨破壊を起こした部位において低酸素状態の箇所一致して HIF-1 α が発現することが確認され、培養細胞でも酸素濃度を低下させると HIF-1 α の発現が高まることが確認されている。また動物実験においても、HIF-1 α を利用してがん細胞にアポトーシスを誘導することにより骨転移が抑制されることが明らかにされている。

カドヘリン 11 を発現する乳癌細胞は骨に向かう

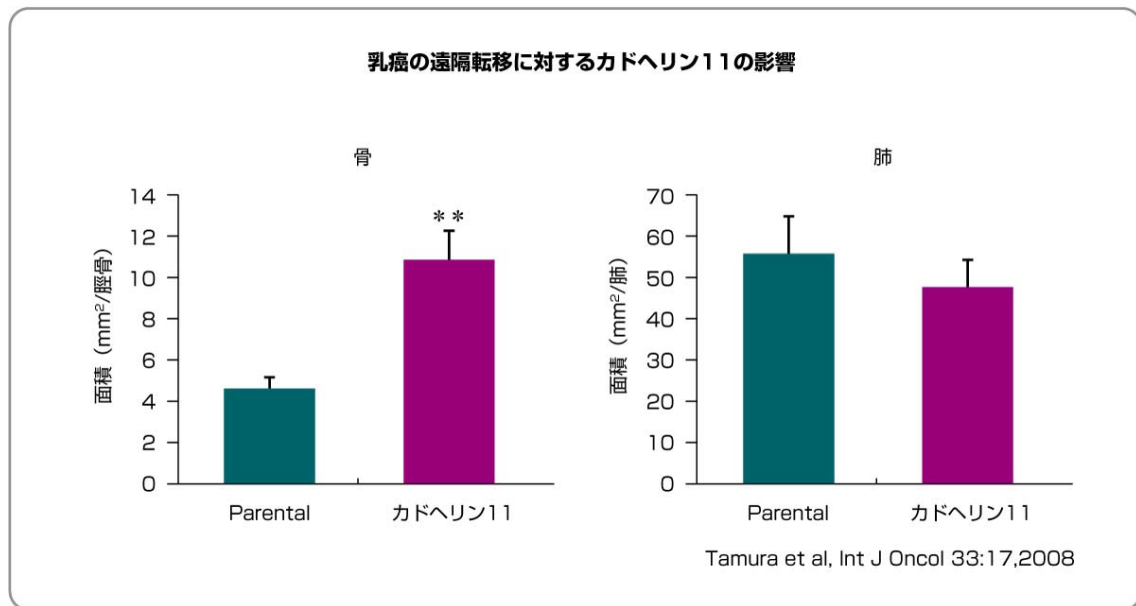
癌は全方位に転移することはなく、また、乳癌の中には骨転移しないものもある。米田氏はこの点について、カドヘリン 11 を発現する乳癌細胞が骨に指向性を示すのではないかと考えている。カドヘリン 11 は II 型古典的カドヘリンで、骨髄ストローマ細胞に特異的かつ恒常的に発現する細胞接着因子である。カドヘリン 11 は浸潤性の高い乳癌に高率に発現し、抗癌作用を持つとされる E-カドヘリンの発現と反比例することがわかっている。

骨転移を発生する乳癌でカドヘリン 11 の発現が高いか否かを調べるため、米田氏は、親株、骨指向性のクローン、脳指向性のクローンの 3 種の細胞株を樹立し、カドヘリン 11



<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>

の発現の違いを比較した。その結果、予測通り、骨指向性に転移するクローンにおいてカドヘリン 11 の発現が高かった。さらに、カドヘリン 11 を発現していないか、ほとんど発現していない親株にカドヘリン 11 を過剰発現させた場合、骨転移は顕著に促進されたが、肺転移にはほとんど差が見られなかったことから、カドヘリン 11 発現が骨転移に特異的であると考えられた（下図）。

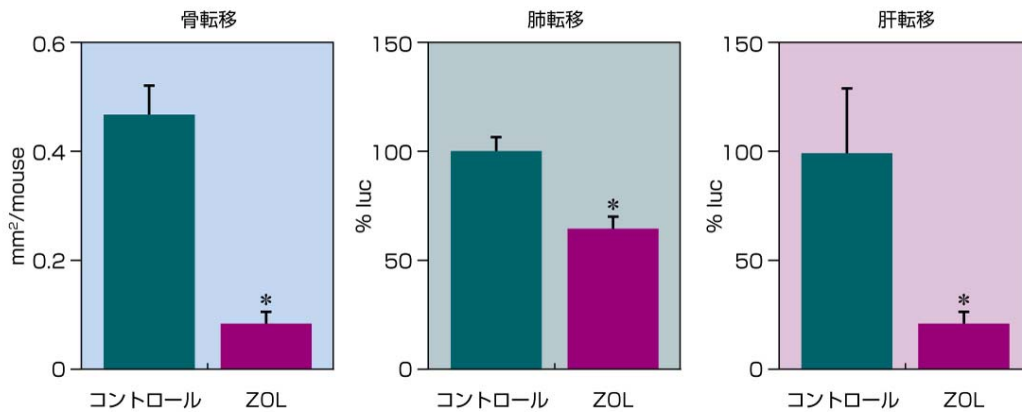


ビスホスホネートが骨以外の転移も抑制する可能性

骨転移の進行を抑制するため、ビスホスホネートが投与される。ビスホスホネートは生体内に存在するピロリン酸に類似した P-C-P 骨格を持つ化合物で、化学的に安定している。投与経路を問わず 50% が骨に集積し、特に破骨細胞で集積が顕著である。残り 50% は尿中に排泄され、血中半減期は約 1 時間である。

米田氏らは 4T1 と呼ばれる骨、肺、肝に自然転移するマウスの乳癌細胞を用い、ビスホスホネートとしてゾレドロン酸（ZOL、商品名：ゾメタ）を投与して影響を比較したところ、予測通り、骨転移は顕著に抑制された。骨転移だけでなく、肺転移と肝転移も ZOL により抑制された点については予想外であったが、実験を繰り返してもこの特異的な現象は常に認められたという（次ページ図）。

4T1乳癌の遠隔転移に対するZOLの効果



Hiraga et al, Clin Cancer Res 10:4559,2004

そこで 4T1 乳癌細胞を骨に直接注射し、そこから肺転移と肝転移の二次転移を起こしてビスホスホネートの効果を調べたところ、ゾレドロン酸の存在下ではいずれの転移も抑制された。米田氏は、この結果についてはさらに確認が必要としながらも、「骨環境を変えるとその後の二次転移も抑制できる可能性が示された」と評価している。

これまでは癌細胞は原発巣から肺や肝に直接転移すると考えられていたが、そういったルートのほかに、癌細胞が骨髄に入り、そこで破骨細胞ニッチ、ストローマ細胞ニッチなどで影響を受け、新たな転移能を獲得した後に肺や肝に転移するメカニズムも考えられた。米田氏は転移の中継点として見ても「骨髄は重要な組織である」と話した。

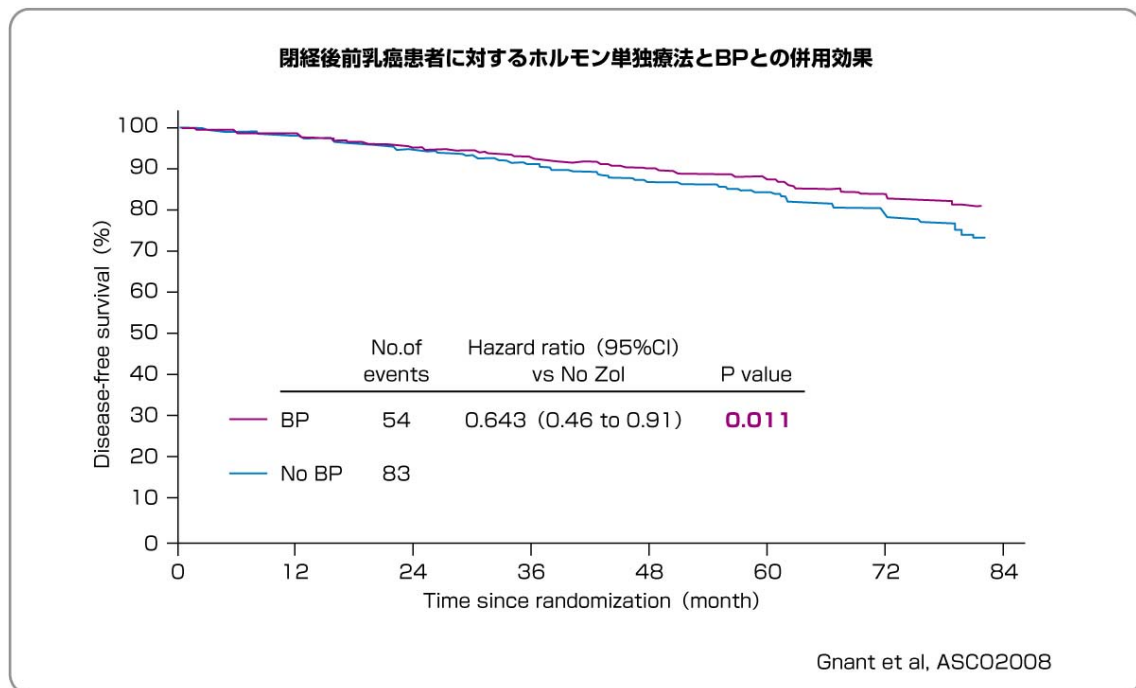
ビスホスホネートは再発も抑制する！？

米田氏らが基礎研究で明らかにした、ビスホスホネートによる転移の抑制機序を立証するような臨床試験のデータも発表され始めている。

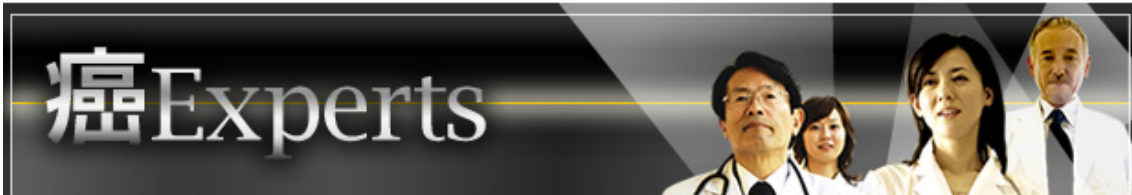
ゾレドロン酸が乳癌再発を抑制する可能性が今年の米国臨床腫瘍学会（ASCO）でオーストリア Medical University of Vienna の Michael Gnant 氏らにより報告された。閉経前の乳癌患者に対するホルモン単独療法とホルモン療法とゾレドロン酸併用療法を比較したところ、併用療法では、ホルモン単独に比べて無病生存期間（DFS）のハザード比が 0.643 となった。すなわち、有意に再発が抑制された（次ページ図）。



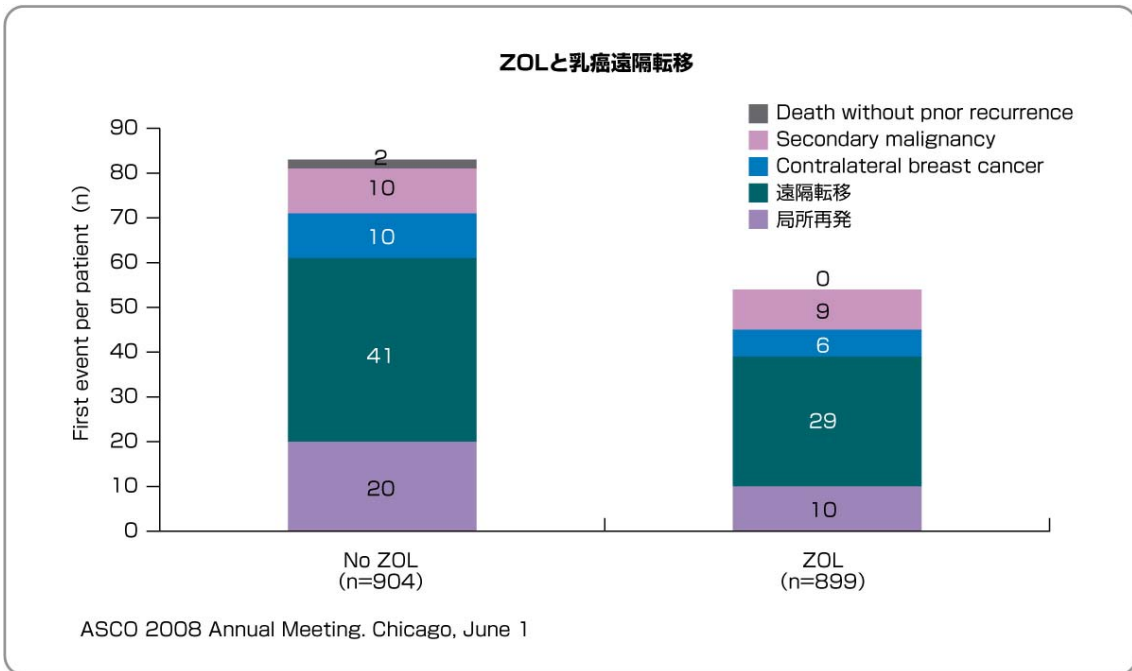
<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>



Gnant 氏らは、ゾレドロン酸の投与群と非投与群について、局所再発と遠隔転移も比較しており、いずれもゾレドロン酸投与群で低い結果であった。ゾレドロン酸など窒素含有ビスホスホネート（N-BP）を術後薬物療法として利用できる可能性が示され始めたようだ（次ページ図）。

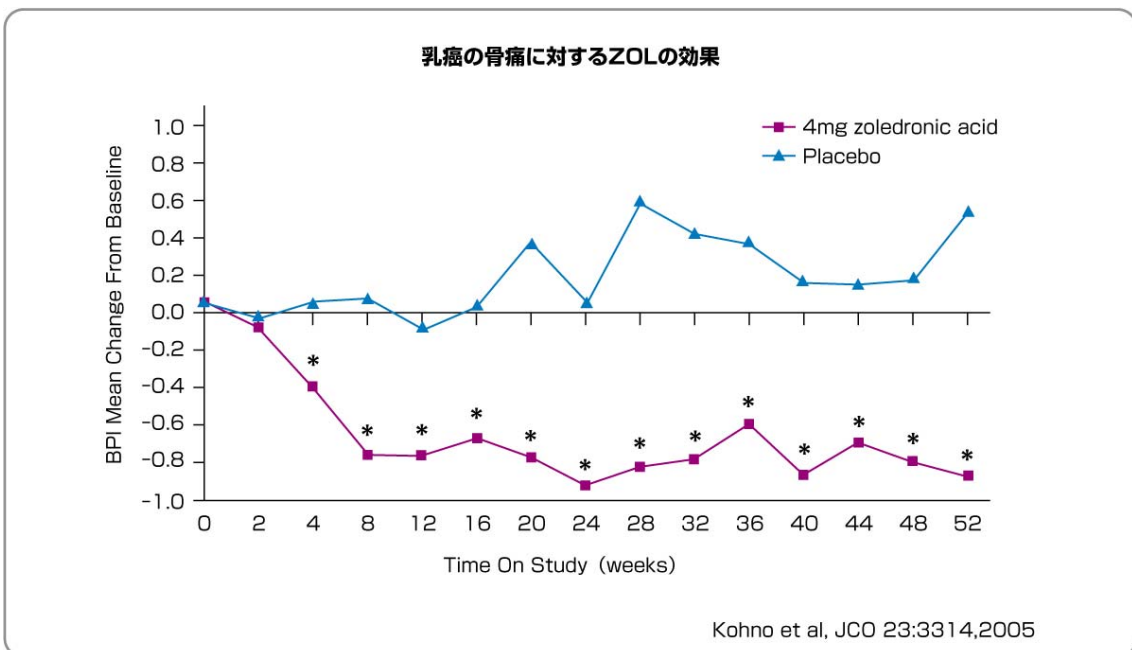


<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>



破骨細胞が放出するプロトンが骨痛に関与

続けて米田氏は、QOLに関連する骨痛に関する研究を発表した。まず、東京医科大学乳腺科の河野範男氏らが2005年に発表したデータを引用し、乳癌患者の骨痛に対するゾレドロン酸の有効性を示した（下図）。

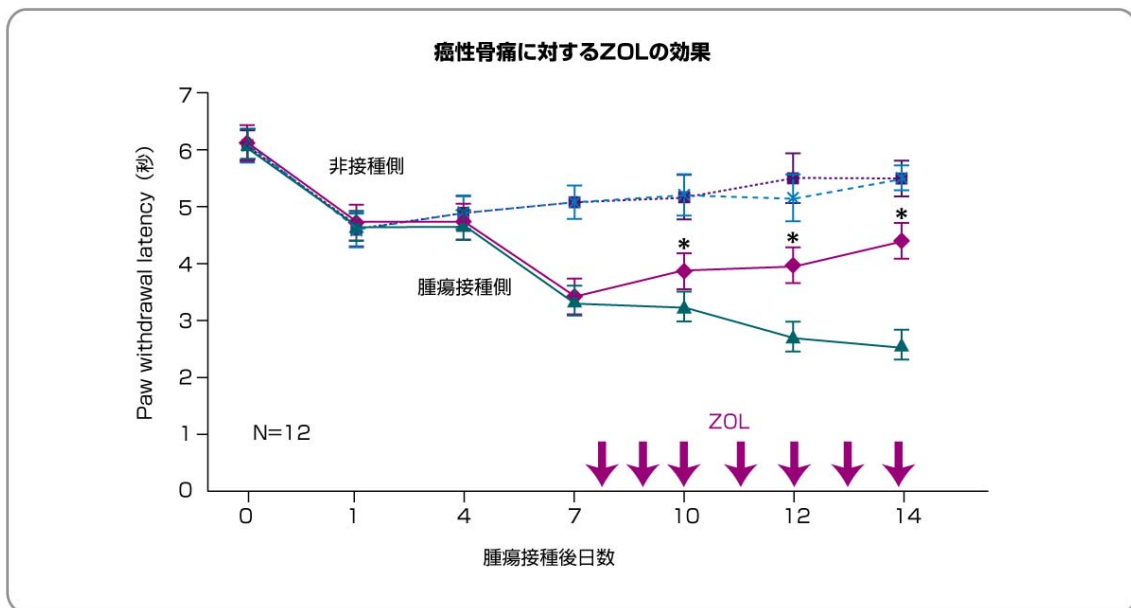




<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>

骨痛に対するビスホスホネートの有効性について、米田氏は「破骨細胞が骨痛に何らかの関与をしているためではないか」と考えた。破骨細胞は塩酸を放出してミネラルを脱灰し、またカテプシン K により骨基質を分解する。米田氏らは破骨細胞が骨を吸収する際に放出するプロトンが骨痛の原因ではないかと仮説を立て、次のような実験で確認した。

マウスの右脛骨の骨髄に癌細胞を接種し、ケージの床に穴を開け、その下に熱板を設置した。熱板の上を通過する時に熱さに反応してマウスが足を引く反応時間を測定すると、腫瘍が増大するにつれ反応時間は短くなる、つまり痛覚過敏を認めるようになる。一方、腫瘍を接種していない足では痛みがないため反応時間は短縮されない。したがってこの動物モデルを用いて骨痛を評価できることが判明した。ゾレドロン酸の投与により、骨痛は緩和し反応時間は延長傾向を示した（下図）。

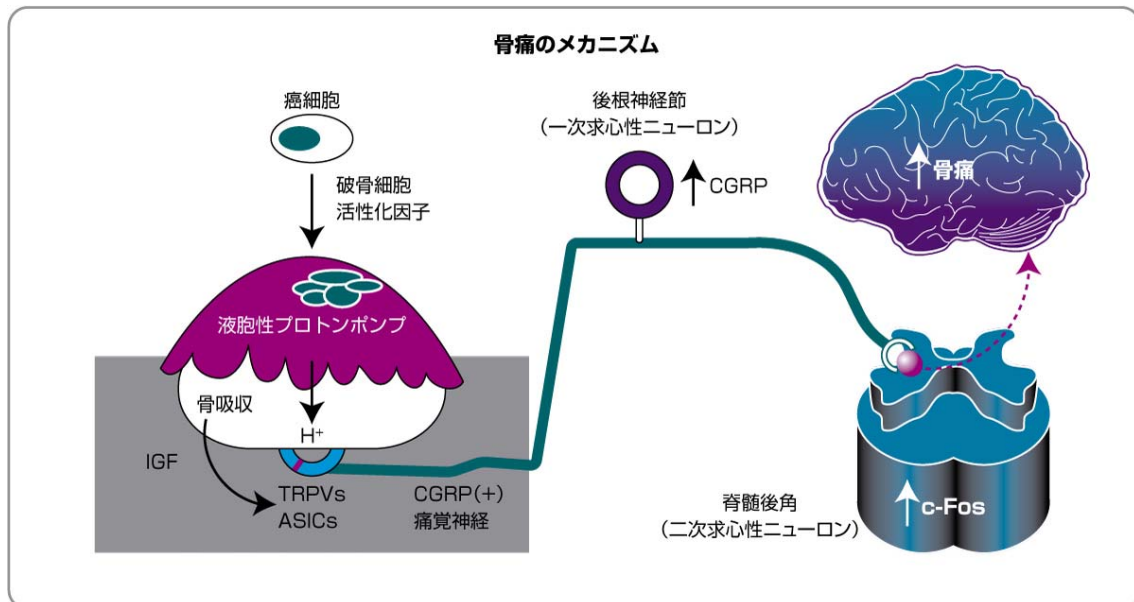


さらに Flinching 法で 2 分間に後足を挙上する回数を測定すると、腫瘍接種後の日数が増すにつれ回数は増加したが、プロトンポンプ阻害剤のバフィロマイシン A1 を投与すると、回数は有意に減少した。これらの結果から、骨痛にプロトンが関与していると考えられた。

痛みにかかわる受容体の中でプロトンによって活性化するものとして、カプサイシンの受容体である Transient Receptor Potential Vanilloid (TRPV) が発見されており、TRPV は骨の中に存在する。米田氏らは、TRPV1 欠損マウスと正常マウスの右足に癌細胞を接種した。TRPV1 欠損マウスは機械的刺激には反応するが、カプサイシンには無反応で、炎症

性反応や熱・酸への応答は低下していることが報告されている。これらのマウスを用いて Flinching 法で骨痛の変化を観察したところ、TRPV1 欠損マウスでは疼痛行動が有意に低下しており、TRPV1 が骨痛に作用していることが証明された。

これらの研究から得られた骨痛のメカニズムを要約すると、次のようになる。破骨細胞が活性化すると、プロトンが放出される。このプロトンが TRPV を刺激し、この刺激が一次求心性ニューロン（後根神経節）に伝わり、さらに二次求心性ニューロン（脊髄後角）を介して、骨痛として脳に認識される。ビスホスホネートは破骨細胞をブロックし、骨痛を緩和する（下図）。



ビスホスホネート関連顎骨壊死を回避するために

ビスホスホネートの有用性が明確になる一方で、ビスホスホネート関連顎骨壊死 (BRONJ) が近年報告されている。ビスホスホネートの使用は 1960 年代後半に始まったが、BRONJ に関する報告は 2003 年以降に限られる。ビスホスホネートの中では、窒素を含むビスホスホネート (N-BP) で発症率が高く、投与経路は静注が多いことが明らかになっている。

発症率は、静注で 100 人当たり 1~10 人、経口では 10 万人に 1 人未満。経口で発症率が低いのは、小腸からの吸収率が低いこと (約 0.7%) に関係するとみられる。男性より女



<http://medical.nikkeibp.co.jp/cancer>

性、骨粗鬆症よりも進行性転移癌、乳癌や前立腺癌よりも骨髄腫で、それぞれ発生頻度が高い。また、発生頻度は投与量、投与回数、投与期間と比例する。

BRONJ の 6～7 割は抜歯をきっかけに発生しているとみられている。抗癌剤やステロイド剤の投与、喫煙などの関与も考えられるが、明確な因果関係は明らかになっていない。

BRONJ の発生機序として考えられているのは、①ビスホスホネートの長期投与により破骨細胞が不活性化されて骨のリモデリングや壊死骨の除去が困難になり、創傷治癒が困難となること②骨の硬化により結果的に外科的侵襲が大きくなること③口腔内の細菌が増殖して顎骨への接着が増しバイオフィルムの形成を亢進すること——など。さらに、ビスホスホネートを投与しているケースでは、高齢や抗癌剤の投与で免疫力が低下していることから、口腔内の細菌感染の頻度が高まっているとみられる。

講演の最後に米田氏は、最も多く寄せられるという二つの質問を紹介した。

最初は「抜歯後、いつ頃からビスホスホネートを再開してよいか？」という質問。抜歯窩の治癒には、血餅形成に 1 週、肉芽形成に 1～2 週、新生骨形成に 2～4 週を要する。「この時期は骨のリモデリングが起こっているため、ビスホスホネートの投与は控えるべき」と米田氏。2 カ月経過すると成熟骨となって破骨細胞の役割は終了しているため、理論的にはこの時点からビスホスホネートの再開が可能という。また、ビスホスホネート投与の前に、口腔清掃および歯・口腔疾患の治療をしておくことが望ましい。

もう一つは「ビスホスホネート中止後、いつ頃から抜歯は可能か？」という質問。ビスホスホネートの消長には 10～12 週を要するため、約 3 カ月はビスホスホネートを中止してから抜歯することが勧められる。ビスホスホネート投与中の抜歯はできるだけ回避したい。抜歯前の口腔清掃、抜歯前から抜歯後までの抗生物質の投与も、BRONJ の予防に必要だ。