

腫瘍最前線レポート - 第76回

～筆者から一言～

今回は、血管肉腫に対するプロプラノロールの効果についてです。皮膚以外の血管肉腫に対しては、手術とドキソルビシンなどの抗がん剤併用による積極的な治療が頻繁に併用されますが、生存期間延長につながる新たな治療方の開発が叫ばれて久しいです。近年、プロプラノロールがドキソルビシンの効果を高める効果がある可能性が示唆され、注目を浴びています。アメリカでは現在、複数の大学附属病院で脾臓血管肉腫の術後にプロプラノロールとドキソルビシンを併用の効果を検討する治験が行われています。脾臓の血管肉腫の平均生存期間は依然として6ヶ月であり、プロプラノロールとドキソルビシンの併用がこの6ヶ月の壁を超えてくれることを願っています。

プロプラノロールはリソソーム薬剤隔離と薬剤排出を変えることにより血管肉腫細胞のドキソルビシンに対する感受性を高める

Front Oncol. 2021 Feb 1;10:614288 doi: 10.3389/fonc.2020.614288. eCollection 2020.

Propranolol Sensitizes Vascular Sarcoma Cells to Doxorubicin by Altering Lysosomal Drug Sequestration and Drug Efflux

Jhuma Saha, Jong Hyuk Kim, Clarissa N Amaya, Caleb Witcher, Ali Khammanivong, Derek M Korpela, David R Brown, Josephine Taylor, Brad A Bryan, Erin B Dickerson

血管肉腫は血管壁を構成する細胞より発生するまれながんであり、致死率が高いが治療オプションは少ない。治療開始時には化学療法が効果的であるが予後は以前として悪く、その理由として腫瘍の薬剤耐性獲得が主な理由としてあげられる。我々は過去に、ヒト血管肉腫細胞とイヌ血管肉腫細胞において、ドキソルビシン蓄積リソソームの数が増加した細胞集団を特定した。ドキソルビシンのように疎水性で弱アルカリ性の化学療法剤はリソソーム内に隔離され、薬物の細胞内ターゲットへのアクセス可能性が低下することにより、薬剤耐性につながる事が知られている。ベータアドレナリンレセプター (β -AR) 拮抗薬であるプロプラノロールと数々の化学療法剤の相乗効果はインビトロで示されており、ヒトの血管肉腫症例でもプロプラノロールを用いることにより化学療法の治療効果が高まることが確認された。プロプラノロールも弱アルカリ性でリソソームに蓄積することから、我々はプロプラノロールが β -AR を拮抗することによりドキソルビシンの治療効果を高めるのか、もしくはドキソルビシンのリソソーム蓄積を防ぐことにより治療効果を高めるのかを検討した。 β -AR 様免疫活性が原発腫瘍組織および細胞株で認められた。 β -AR の機能は、 β -AR 拮抗薬および作用薬に対する β -AR 下流のシグナル活性をモニタリングすることにより確認した。プロプラノロールは血管肉腫細胞において、リソソーム蓄積とドキソルビシンの薬物排出を減らすことにより、細胞質内のドキソルビシン濃度を増加させた。同じ濃度の β -AR 活性 S-(-) および不活性 R-(+)鏡像異性体であるプロプラノロールを用いたところ同様の効果が得られたことから、プロプラノロールとドキソルビシンの相乗効果は β -AR 非依存性であることが示された。血管肉腫細胞を長時間プロプラノロールに暴露させたところ、リソソームのサイズと数の増加につながったが、プロプラノロールの存在下でドキソルビシンの細胞毒性効果は維持された。逆にプロプラノロールを除いたところ、ドキソルビシンの治療効果が低下し、リソソームのドキソルビシン隔離が耐性の主なメカニズムであることが確認された。この結果は、 β -AR に結合しない R-(+) 鏡像異性体のプロプラノロールと弱アルカリ性の化学療法剤を用いることにより、 β -AR 拮抗により生じる心血管系への影響やその他の副作用を起こさずに、化学療法の細胞毒性を高め薬剤耐性獲得の発生頻度を低くするために有効である可能性を示唆する。

Angiosarcoma is a rare cancer of blood vessel-forming cells with a high patient mortality and few treatment options. Although chemotherapy often produces initial clinical responses, outcomes remain poor, largely due to the development of drug resistance. We previously identified a subset of doxorubicin-resistant cells in human angiosarcoma and canine hemangiosarcoma cell lines that exhibit high lysosomal accumulation of doxorubicin. Hydrophobic, weak base chemotherapeutics, like doxorubicin, are known to sequester within lysosomes, promoting resistance by limiting drug accessibility to cellular targets. Drug synergy between the beta adrenergic receptor (β -AR)

antagonist, propranolol, and multiple chemotherapeutics has been documented *in vitro*, and clinical data have corroborated the increased therapeutic potential of propranolol with chemotherapy in angiosarcoma patients. Because propranolol is also a weak base and accumulates in lysosomes, we sought to determine whether propranolol enhanced doxorubicin cytotoxicity *via* antagonism of β -ARs or by preventing the lysosomal accumulation of doxorubicin. β -AR-like immunoreactivities were confirmed in primary tumor tissues and cell lines; receptor function was verified by monitoring downstream signaling pathways of β -ARs in response to receptor agonists and antagonists. Mechanistically, propranolol increased cytoplasmic doxorubicin concentrations in sarcoma cells by decreasing the lysosomal accumulation and cellular efflux of this chemotherapeutic agent. Equivalent concentrations of the receptor-active S-(-) and -inactive R-(+) enantiomers of propranolol produced similar effects, supporting a β -AR-independent mechanism. Long-term exposure of hemangiosarcoma cells to propranolol expanded both lysosomal size and number, yet cells remained sensitive to doxorubicin in the presence of propranolol. In contrast, removal of propranolol increased cellular resistance to doxorubicin, underscoring lysosomal doxorubicin sequestration as a key mechanism of resistance. Our results support the repurposing of the R-(+) enantiomer of propranolol with weak base chemotherapeutics to increase cytotoxicity and reduce the development of drug-resistant cell populations without the cardiovascular and other side effects associated with antagonism of β -ARs.