

CAF と協調した癌圧排性浸潤を促進させる細胞増殖についての研究

[1] 組織

代表者：伊藤 剛
(秋田大学大学院医学系研究科)
対応者：田中 耕三
(東北大学加齢医学研究所)
分担者：田中 正光
(秋田大学大学院医学系研究科)
栗山 正
(秋田大学大学院医学系研究科)
研究費： 物件費 36 万 5 千 7 百円
旅費 3 万 4 千 3 百円

[2] 研究経過

共同研究では癌細胞の増殖と密接な関係をもつ染色体分配に注目し、分配の失敗が癌浸潤や腫瘍形成に与える影響を個体レベルで解明することが目的である。

染色体分配の失敗は巨核・多核の癌細胞を生み出す原因となる。このような癌細胞は分裂期に異常な染色体分配を繰り返しながら、やがてある頻度で単核の細胞へと戻る。この癌細胞は染色体数の異なる異数性を有するため、遺伝的攪乱を原因とした癌細胞の性質が変貌する可能性について考えられている。

近年、癌周辺の間質の線維芽細胞が癌細胞に応答することで癌関連線維芽細胞 (CAF) へと変換し、癌浸潤をリードすることがわかってきた。これにより癌細胞はより広域へと移動することが可能となり、播種型あるいは転移の癌病態へとつながる。

共同研究により、申請者らは巨核の癌細胞は(単核の癌細胞と同様に) CAF と協調することにより、浸潤できることを明らかにした。結果、異数性を有する癌細胞はがん患部で広域へと分散できる可能性がある。

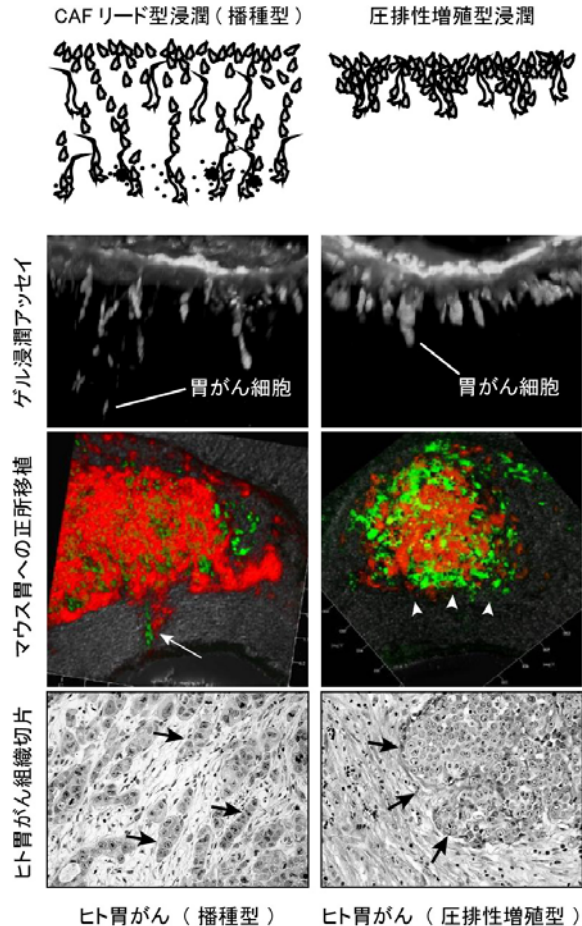
研究成果として、CAF による癌細胞増殖の制御が播種型と圧排性増殖型の癌浸潤様式を選択(右図)にとって重要である一面を見つけた (Oncogene, 2017)。

また、細胞増殖時の染色体分配について調べる過程で、分裂初期での染色体の動態にとって重要である分子機構を明らかとし、この機構と染色体分配との関連を共同研究として報告した (Scientific Reports, 2018)。

以下、研究活動状況の概要を記す。

平成 29 年 11 月 24 日、12 月 14 日、12 月 21 日、東北大学加齢医学研究所へ出張：同所にて実験を実施した。同時に、現在までの研究成果の報告ならびに今後の指針について 打ち合わせを行った。加えて、

田中耕三教授とは e-mail により進捗状況について随時の打ち合わせを行ってきた。



ヒト胃がん (播種型) ヒト胃がん (圧排性増殖型)
スキルス胃癌細胞 (緑) と CAF (赤) をマウス胃へと正所移植したときの筋層内への CAF リード型の癌浸潤 (矢印)。ある条件とした場合には、筋層への癌浸潤は起こらず筋層境界において癌増殖が認められる (矢尻)。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

染色体分配異常と癌病態との関係。

- 1.) 抗がん剤治療過程におけるヒト胃がん組織切片を観察した結果、巨核および多核を有する癌細胞が認められた。また、異常な有糸分裂の様子が観察された。
- 2.) 1.) に類似するモデル癌細胞を検討した。具体的に抗がん剤処理後に巨核となり、増殖できる癌細胞株を探した。SAS 細胞 (口腔扁平上皮癌細胞株) は微小管重合阻害剤ノコダゾール処理により巨核となり大規模な染色体分配異常を示しながら増殖することを見つけた。
- 3.) 巨核とした SAS 細胞をマウス皮下へと移植し、

3日および8日後における細胞核の様子を調べた。3日後では多核や巨大核を含むSAS細胞が認められた。一方、8日後では高い頻度で単核となった細胞が観察された。癌細胞周辺には線維芽細胞の分布が認められた。In vitroと比較して、In vivoでは巨核から単核細胞への推移が速かった。現在、安定して細胞分裂を進行できる癌微小環境が整えられている可能性を想定している。

4) SAS巨核細胞の癌浸潤を検討した。CAFとSAS巨核細胞をゲル上にて共培養(3Dゲル浸潤アッセイ)した結果、細胞増殖は可能であり、CAFを足場としたSAS細胞の広域へと浸潤する様子が認められた。一方、ノコダゾール処理を継続した状態でSAS巨核細胞とCAFを共培養した場合、顕著な圧排性増殖型の癌浸潤が観察された。

5.) In vitroでは単核である44As3スキルス胃癌細胞を皮下移植や各種臓器に移植した場合、特定箇所では巨核や多核の細胞となることが観察された。ある環境では癌細胞の異数性が亢進される可能性が考えられた。平成30年度では、1.)-5.)で得た結果をより詳細とすることで、染色体分配異常によって異数性を有した癌細胞が間質細胞と協調することで、どのように癌病態と関連していくのかについて明らかにしていく。

染色体分配に関する研究成果を Scientific Reports 誌 (2018) にて報告した

染色体分配は、染色体が紡錘体を形成する微小管に、キネトコアを介して結合することによって起こる。染色体と微小管の結合は、分裂初期には一過性にキネトコアの微小管側面への結合(側面結合)、その後微小管末端へと転換(末端結合)される。分裂初期に染色体群は規則的な配置を示す。染色体が放射状に並ぶ様子から prometaphase rosette と呼ばれている。

共同研究において、側面結合はキネトコアの構成分子のなかでも Hec1、ZW10、CENPE の連携により維持されることを明らかとした。ヒト子宮頸がん株である HeLa 細胞からこれら分子を同時に発現抑制すると、側面結合の欠損と異形の prometaphase rosette が観察された。また、ライブセルイメージングと固定像によって、その後の末端結合に解離が認められ、染色体分配は異常となることがわかった。

結果より、正しい側面結合は末端結合への転換を保障することで、最終的に適切な染色体分配につながる重要な分裂期イベントであることが示唆された。

(3-2) 波及効果と発展性など

近年、癌細胞と間質細胞が協調することにより、癌浸潤が促進され、より広範な腫瘍が引き起こされることがわかってきた。しかしながら、この浸潤機構およびその腫瘍形成に対する関係性についての知見はまだ少ない。

本研究により、申請者らは染色体分配異常を伴い

増殖する癌細胞が間質のCAFと協調して播種型と圧排性型の癌浸潤を示すことを新たに見つけた。癌単独での浸潤能は低いかもしれないが、間質細胞との協調によって、ゲノム情報の異質な癌細胞ががん患部で広がっていくことが想定された。

今後、巨核の癌細胞に由来する単核の癌細胞(異数体細胞)と間質細胞との作用が変遷するかどうかについて mRNA 発現の遷移をマイクロアレイで探索することで癌浸潤の更なる理解を進める予定である。

また、現状は胃癌や口腔癌細胞を主として使用しているが、将来的には臓器各所での各種癌細胞でも共通な浸潤機構が生じているのかについても検討していく予定である。

細胞レベルの実験により知り得た癌浸潤の情報とマウス生体での腫瘍病態形成メカニズムへの関わりを詳細にしていくため、将来的に癌もしくは間質細胞を標的とした医学実用的な癌抑制のターゲット因子や経路を提言できる可能性がある。

本共同研究で明らかになった異数性癌細胞の癌浸潤の成果は、多様な性質を備える癌集団と間質細胞で構成されるヘテロな細胞集団の癌浸潤解析という新しい研究領域の開拓に結びつき、今後の発展が期待される。

[4] 成果資料

(1) Lateral attachment of kinetochores to microtubules is enriched in prometaphase rosette and facilitates chromosome alignment and bi-orientation establishment
Go Itoh, et al Kozo Tanaka.

Scientific Report (2018) 8, 3888

(2) Cancer-associated fibroblasts induce cancer cell apoptosis that regulates invasion mode of tumors

Go Itoh, et al Masamitsu Tanaka.

Oncogene (2017) 36, 4434-4444

(3) Mesothelial cells create a novel tissue niche that facilitates gastric cancer invasion

Masamitsu Tanaka, Sei Kuriyama, **Go Itoh** et al

Cancer research (2017) 77, p684-695

(4) Identification of anti-cancer chemical compounds using Xenopus embryos

Masamitsu Tanaka, Sei Kuriyama, **Go Itoh** et al

Cancer Science (2016) 107, p803-811.

(5) 播種型と圧排性増殖型のがん浸潤を選択するシステム :

伊藤剛、田中正光

生化学誌 ミニレビュー (2018) 90 巻 第2号

2018年4月20日掲載