

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 15 万円

[2] 研究経過

染色体分配の失敗は癌細胞の性質の変化につながっていく。分配の失敗が癌浸潤や腫瘍形成に与える影響を組織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様の細胞へと戻ることが知られている。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て癌細胞の性質が変貌し、抗がん剤耐性獲得などの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、癌浸潤を積極的にリードすることがわかってきた。癌細胞がこのメカニズムによって広域へと移動することが可能となることで、播種型あるいは転移の癌病態が生み出されると考えられている。

最近、申請者らは CAF による癌細胞浸潤の制御が播種型と圧排性増殖型の癌浸潤様式の選択 (図参照) 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挙動が分裂後期の正確な染色体分配に繋がる機序を解析し、共同研究として報告した (Scientific Reports, 2018)。

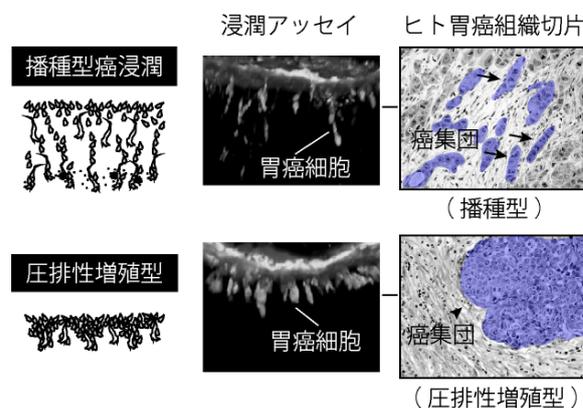
これまでの共同研究により、申請者らは抗がん剤治療過程のヒト胃がん組織切片において、巨核や多

核を有する癌細胞を見つけた。また、異常な有糸分裂の様子を観察した。そこで、モデルとなる巨核癌細胞を検討した。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伴い増殖できることを見つけた。

さらに、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、増殖した SAS 巨核細胞が CAF を足場として広域へと浸潤する様子が認められた。

このように、巨核の癌細胞は (単核の癌細胞と同様に) CAF と接着し、浸潤できることを明らかにした。この結果は、異数性を有する癌細胞が CAF を介して癌患部において広域へと分散できる可能性を示している。

研究活動状況の概要として、染色体分配についての研究成果の報告ならびに今後の指針について、田中耕三教授と随時の打ち合わせを e-mail により行ってきた。



[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.) 巨核とした SAS 細胞をマウス皮下へと移植し、8 日後の腫瘍における SAS 細胞の分布を調べた。腫瘍の癌細胞は様々なサイズの核を有していた。コントロールである単核の SAS 細胞を皮下移植した場合と比較すると、巨核の SAS 細胞由来である癌細胞は腫瘍において広域に分布していることが明らかとなった。また、この癌細胞周辺では多くの CAF の分布

が認められた。巨核細胞は癌進展に有利である癌微小環境を構築できる可能性が考えられた。

2.) SAS 巨核細胞の圧排性浸潤を検討した。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) すると、SAS 巨核細胞が CAF 依存の広域への浸潤を示す。一方でノコダゾール処理を継続した状態で SAS 巨核細胞と CAF を共培養した場合では顕著な圧排性増殖型の癌浸潤が観察された。

3.) 2.) で観察された圧排性浸潤と播種型浸潤との関連を検討した。ノコダゾール処理後、SAS 細胞は生存できるが、CAF は生存できないことがわかった。CAF の有無は圧排性と播種型の浸潤モードの切り替えに重要であるといえる。さらに、圧排性浸潤を形成した癌集団の塊に CAF 培養上清を反応させると癌細胞は細胞間接着を解除して、播種型浸潤へと移行できることが明らかとなった。

4.) H2BJ-EGFP を安定発現させた SAS 巨核細胞をマウス口腔内へと同所移植し、2 週間後に腫瘍や癌転移について調べた。口腔内における巨大な腫瘍および、頸部リンパ節において顕著な EGFP 蛍光が認められた。現在、腫瘍組織の HE 染色や免疫組織染色により癌細胞の増殖能や癌周辺の CAF の分布についての検討を進めている。

(3-2) 波及効果と発展性など

近年、癌細胞は多種の間質細胞と協調することによって癌浸潤を促進させ、より広範な腫瘍が引き起こされることがわかってきた。この浸潤機構や腫瘍形成についてはまだまだ未知な点が多くある。

播種型と圧排性型癌浸潤はがん悪性度の判断にとって重要な基準であり、このモード変換の研究は申請者らが世界に先がけて研究し、報告した。

共同研究により、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、そのメカニズムを追跡してきた。現在、口腔癌細胞に加えて、臓器各所での各種癌細胞と間質細胞との組み合わせでも浸潤モードの切り替え機構について検討できる段階にある。

今後、巨核の癌細胞に由来する癌細胞 (異数体細胞) と間質細胞との相互作用が変遷するかどうかについても検討していく。癌細胞から放出される細胞外小胞が CAF に与える影響について注目し、細胞外小胞に含まれる分子や、細胞外小胞による刺激後の CAF の mRNA 発現の差異をマイクロアレイで探索することで癌巨核細胞と間質細胞の関連について理解を進めていく。

共同研究は癌異数性に由来した多様な性質を備え

る癌集団と間質細胞で構成される極めて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く。癌集団の解析は複雑となることが想定され、長期的に取り組んでいける研究テーマとして発展できると捉えている。

[4] 成果資料

(1) Macrophage-mediated transfer of cancer-derived components to stromal cells contributes to establishment of a pro-tumor microenvironment.

Umakoshi M, Takahashi S, Go Itoh et al Masamitsu Tanaka.

Oncogene (2018) doi: 10.1038/s41388-018-0564-x.

(2) A study of wound repair in Dictyostelium cells by using novel laserporation.

Pervin MS, Go Itoh et al Yumura S.

Scientific Report (2018) 8, 7969

(3) 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

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

Go Itoh, et al Masamitsu Tanaka.

Oncogene (2017) 36, 4434-4444

(5) 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

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

Masamitsu Tanaka, Sei Kuriyama, Go Itoh et al .

Cancer Science (2016) 107, p803-811.

(7) 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

(学会発表) 第 77 回日本癌学会学術総会

間質細胞と協調する巨大癌細胞の癌浸潤ジオメトリー (2018 年 9 月 27 日大阪国際会議場にて口頭発表)

伊藤剛、田中正光