

課題番号 33

がん微小環境が癌ゲノム情報の多様性を創成するメカニズムの解明

[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 20 万円

[2] 研究経過

癌細胞は増殖の失敗を繰り返すことで、多様な性質を獲得していく。また近年、癌細胞とその周辺細胞との相互作用も癌多様性を増幅することがわかってきた。癌多様性の経路は複数あり、各経路のリンク(結びつき)の解明は癌の理解に重要な研究課題といえる。共同研究では、癌の多様性が組み合わさった際に表面化する癌悪性化システムの解明を目的とする。従来とは異なる効果的な癌抑制経路を模索し、癌の緩和を目指した研究を行う。以下、研究活動状況の概要を記す。

癌細胞のゲノム情報の変化は癌悪性化に結びつく。癌細胞での染色体分配異常はゲノム情報変化の原因として挙げられる。複数回の分配失敗は染色体構造やゲノム DNA にダメージを与え、それらの誤った修復と蓄積がゲノム情報の変異を加算させる。結果、癌細胞は高い移動性や増殖能、抗がん剤耐性などの癌悪性化に有利な性質を獲得する頻度を高める。

また、癌組織に多く存在する異質な間質細胞の癌細胞刺激もゲノム情報変化の原因となる(図1)。近年、癌周辺の異質な間質細胞(注1)が癌細胞の遺伝子発現を誘導し、運動エフェクト分子の亢進による癌増殖や浸潤の亢進に働くことがわかった。癌治療の発展にとつて、染色体分配異常と同じく、後者の癌周辺環境(がん微小環境)も無視できない事象ではあるが未知な点はまだ多い。

申請者は組織特異的ながん微小環境が癌細胞の染色体分配異常を導くことを見つけた(2018年、癌学会学術総会にて発表)。本研究ではがん環境が分配異常を導く分子メカニズムを明らかにする。また、分配異常

により多核・巨大核となった異質な癌細胞が間質細胞を刺激し、異質な癌細胞をより異質な癌細胞へと変貌させる鍵となるかを検討していく(図2)。

今年度の共同研究では、世界に先駆けて異質な

癌細胞株の同定および解析ツールの構築に成功した。また、この細胞が癌悪性化を進める能力があるのか調べた。増殖・移動・浸潤性が確認できた。またマウス生体への生着も確認できた。癌組織内での癌染色体分配と間質細胞の関連は未開拓なテーマである。将来的に、組織内から巨核・多核癌細胞や間質細胞を単離し、ゲノム情報をマイクロアレイにより解析する。細胞間相互作用による以下の発現変化を捉え(癌染色体分配や・癌悪性化の関連因子・間質細胞の癌刺激因子)癌ゲノム情報の多様性獲得の経路を体系化していく。

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。また、研究推進に必要な抗体と分裂期関連遺伝子の発現ベクターの提供を受けている。

注1: 癌細胞に刺激され性質が変化した間質細胞。本研究は CAF (癌関連線維芽細胞) に注目。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

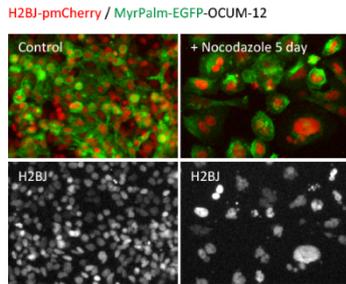
1. 本研究は胃癌をモデルとしている。そこでスキルス胃癌由来 CAF と胃癌細胞との相互作用を主体に検討した。CAF との相互作用を直観的に検知できるディテクター胃癌細胞株を探索した。OCUM-12 胃癌細胞に CAF 由来の培養上清を反応させたとき、12 時間ほどで細胞の形態が大きく変化することがわかった。ま



た同条件で、細胞間接着の減衰や移動速度の向上が考えられた。

微小管重合阻害剤であるノコダゾールは癌アポトーシスを引き起こす。OCUM-12 をノコダゾールで処理したとき、巨核となりアポトーシスが生じないことがわかった。ノコダゾール除去後、異常な染色体分配を繰り返しながら増殖できることがわかった。

2. 染色体分配や細胞形態の観察ツール(マーカー分子)を安定発現させた OCUM-12 株を樹立した。CENP-A-EGFP (キネトコア)、MyrPalm-EGFP (細胞膜)、H2BJ-pmCherry (染色体) を単独もしくは複数発現する株を樹立できた(右図)。これまでに、申請者はこれらツールを活用することで加齢研・分子腫瘍学研究分野との共同研究成果を報告している (Scientific Reports, 2018)。



3. 間質細胞と OCUM-12 単核 / 多核・巨核細胞の相互作用を解析した。成果 2 で樹立した細胞株を用いて細胞運動を解析した。CAF 由来の培養上清に反応後、癌細胞は細胞間接着を解除し、細胞運動を飛躍的に上昇させることがわかった。Fiji software Trucking により、移動速度・ランダム移動などを数値化していった。

4 多核・巨核癌細胞の浸潤を検討した。3D ゲル浸潤アッセイにより、OCUM-12 多核・巨核細胞は浸潤できることを明らかとした。コラーゲンゲル上で CAF と OCUM-12 多核細胞を共培養した結果、CAF 依存型の癌浸潤を示した。異常な癌細胞は間質細胞を介して組織を拡散できることが考えられる。

5. 胃への同所性移植を試行した。OCUM-12 と CAF のマウス胃への同所性移植をテストした。OCUM-12 が CAF 依存的に胃壁深部へと浸潤している様子が認められた。今後は多核・巨核癌細胞でも同様の検討を進めていく。

(3-2) 波及効果と発展性など

申請者はこれまでに 1. 細胞分裂の重要プロセスである染色体分配と細胞質分裂、2. 間質細胞と癌細胞の相互作用による癌悪性化メカニズムについて研究してきた。これら 2 つの大きく異なる研究分野に精通した研究者らによる研究体系は世界を通じて珍しく、国内には皆無である。本共同研究によって、両分野を横断した研究を推進することが可能となった。新規の融合領域を開拓し、研究成果を上げつつある。従来の癌細胞をターゲットとした抗癌治療に加え、癌・間質細胞

との相互作用の遮断効果を狙った治療を併用することで癌悪性化の抑制に向けた新たなアプローチを提案できることが期待される。

[4] 成果資料

(発表論文)

1. Dynamin-Like Protein B of Dictyostelium Contributes to Cytokinesis Cooperatively with Other Dynamins.

Fujimoto K, Tanaka M, Rana AYKMM, Jahan MGS, **Itoh G**, Tsujioka M, Uyeda TQP, Miyagishima SY, Yumura S. Cells. (2019) Jul 26;8(8).

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

Umakoshi M, Takahashi S, **Itoh G**, Kuriyama S, Sasaki Y, Yanagihara K, Yashiro M, Maeda D, Goto A, Tanaka M. Oncogene. (2019) Mar;38(12):2162-2176.

(学会発表)

1. マクロファージ、CAF、癌細胞が協調した MMP9 産生と活性化および、癌への関与

伊藤剛、佐々木裕都、高金くらら、田中正光 (秋田大学大学院医学系研究科)

2019 年 12 月 4 日 第 42 回日本分子生物学会年会

2. 間質細胞と協調した巨大癌細胞の増殖と癌浸潤ジオメトリー

伊藤剛、田中正光 (秋田大学大学院医学系研究科)

2019 年 9 月 27 日 第 78 回日本癌学会学術総会

3. CAF により教育された線維芽細胞はがんの播種を促進する

田中正光、**伊藤剛**、高金くらら、# 八代正和 (秋田大学大学院医学系研究科、# 大阪市立大学大学院医学系研究科)

2019 年 9 月 27 日 第 78 回日本癌学会学術総会

4. 癌関連マクロファージの産生する MMP9 が癌浸潤を促進するメカニズムについて

伊藤剛、中村華子、佐々木裕都、田中正光 (秋田大学大学院医学系研究科)

2019 年 6 月 8 日 第 85 回日本生化学会・東北支部例会