

課題番号 14

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 10 万円

[2] 研究経過

癌細胞は細胞周期を通じたゲノム複製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。

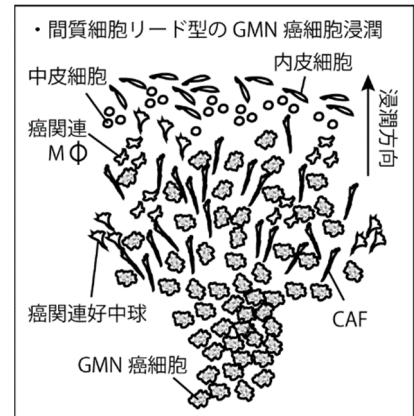
癌細胞のゲノム情報の変化は癌悪性化に結びつく。癌細胞での染色体分配異常はゲノム情報変化の原因として挙げられる。複数回の分配失敗は染色体構造やゲノム DNA にダメージを与え、それらの誤った修復と蓄積がゲノム情報の変異を加算させる。結果、癌細胞は高い移動性や増殖能、抗がん剤耐性などの癌悪性化に有利な性質を獲得する頻度を高める。

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。近年、癌周辺の異質な間質細胞（右図）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。癌治療の発展にとって、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（2020 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（GMN 癌細胞）



が間質細胞と反応し、より異質な細胞へと変貌・分散していくメカニズムを検討する。

これまでの研究成果により、GMN 癌細胞は CAF（注釈参照）により上皮間葉転換、腫瘍浸潤が亢進されることが想定された。また、GMN 癌細胞は CAF 由来の外部刺激に対して高い感受性を持つことが予想された。そこで、CAF 由来の細胞外小胞やサイトカインが、GMN 癌細胞の移動・増殖能を増大させるシグナル経路の特定を進めた（トランスクリプトーム解析データ活用）。

将来的に、ヒト癌組織でも特定した細胞間相互作用のシグナル経路を介した癌染色体分配や・癌悪性化の関連因子・間質細胞の癌刺激因子の変化を捉え、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。

注釈：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

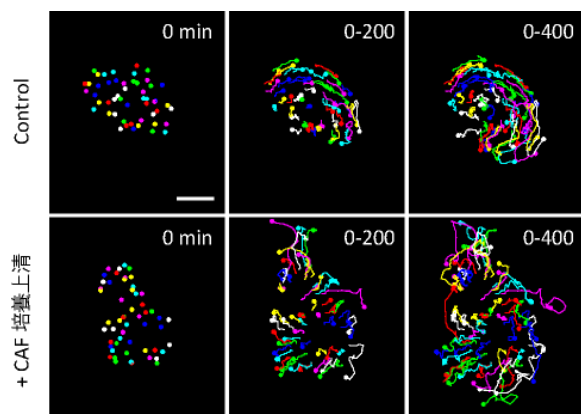
(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

1. GMN 癌細胞は SAS (口腔扁平上皮癌細胞株) を微小管重合阻害剤であるノコダゾールで処理することで巨核とし、産生された。ノコダゾール除去後、この巨核細胞は異常な染色体分配を繰り返しながら、多核となり増殖できる。単核の SAS と GMN 化させた SAS の遺伝子発現変化をトランスクリプトーム解析により探索した。また、CAF 由来の細胞培養上清の処理有・無しにおける SAS 癌細胞の遺伝子発現変動をトランスクリプトーム解析により探索した。データの差位解析を統合することで、GMN 癌細胞の移動・増殖能を増大させるサイトカインやシグナル経路の特定を進めている。

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 SAS 細胞株を樹立した。MyrPalm-EGFP (細胞膜)、H2BJ-pmCherry (染色体) を単独もしくは同時発現する株を樹立できた。

3. 間質細胞と単核または多核・巨核の SAS 癌細胞株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(下図)。Fiji software Trucking により、移動速度・ランダム移動などの数値化を進めている。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)。



(3-2) 波及効果と発展性など

申請者はこれまでに 1. 細胞の癌化の原因となる細胞分裂 (染色体分配と細胞質分裂メカニズムの研究)、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 つの研究分野は一見して独立した分野ではあるが、実は癌悪性化にとって密接な関連があることを見つけた。共同研究では両分野をリンクさせた研究体系を構築させた。本体系は世界を通じて先端であり、国内には皆無である。現在、研究成果を上げつつあり、学会発表を経て、論

文作成の準備を進めている。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. Expression of asporin reprograms cancer cells to acquire resistance to oxidative stress.

Sasaki Y, Takagane K, Konno T, Itoh G, Kuriyama S, Yanagihara K, Yashiro M, Yamada S, Murakami S, Tanaka M. Cancer Sci. 2021 Mar;112(3):1251-1261. doi: 10.1111/cas.14794.

2. Ca²⁺-Calmodulin Dependent Wound Repair in *Dictyostelium* Cell Membrane.

Talukder MSU, Pervin MS, Tanvir MIO, Fujimoto K, Tanaka M, Itoh G, Yumura S. Cells. 2020 Apr 23;9(4):1058. doi: 10.3390/cells9041058.

(学会発表)

1. 腫瘍進行における GMN (Giant and / or Multi-Nucleated) 癌細胞の動態解析

伊藤剛, 福土由真, 高金くらら, 田中正光 (秋田大学大学院医学系研究科)

2020 年 5 月 30 日 第 86 回日本生化学学会・東北支部例会

2. 間質細胞と癌細胞が協調した MMPs 産生と活性化および、癌進展への関与

○福土由真, 伊藤剛, 高金くらら, 田中正光 (秋田大学大学院医学系研究科)

2020 年 5 月 30 日 第 86 回日本生化学学会・東北支部例会

3. Dynamics of giant cancer cells cooperating with cancer associated fibroblasts

伊藤剛, # 八代正和, 田中正光 (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)

2020 年 10 月 1 日 第 79 回日本癌学会学術総会