

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 (秋田大学医学系研究科)

栗山 正 (秋田大学医学系研究科)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

癌細胞の巨核・多核化はゲノム情報の錯乱に結びつき、癌細胞の移動促進やがん治療耐性などの獲得につながっていく。また近年、癌細胞は周辺細胞と相互応答することで、遺伝子発現を変化させることが注目されている。

がん組織における癌細胞の遺伝情報はこのような複数の要因で決定されるため、多様となっている。本研究では、巨核・多核の癌細胞と周辺細胞の応答を追跡し、がん増悪との関係を解明する(右図)。従来とは異なる効果的ながん抑制経路を提言し、がん緩和を目指す。以下は研究活動の概要である。

癌細胞のゲノム情報の錯乱はがん悪性化に結びつく。巨核・多核癌細胞で散見される染色体分配異常はゲノム情報を錯乱させる原因の1つである。複数回の分裂失敗は染色体構造やゲノム DNA に大規模なダメージを与え、それらの誤った修復の蓄積はゲノム情報の錯乱を加速させる。その結果、巨核・多核癌細胞では高い運動性や増殖能、がん治療耐性などのがん悪性化に有利な性質を獲得する頻度が高まる。また近年、がん組織に多く存在する異質な間質細胞による癌細胞刺激もがん悪性化の原因としてわかってきた。癌細胞に応答した間質細胞は異質な細胞へと変化し、癌細胞におけるサイトカインや細胞運動の活性化因子などの遺伝子発現を誘導することが見

えてきた。効果的ながん治療にとって、染色体異常と同じく、後者の癌周辺環境(がん微小環境)も無視できないターゲットではあるが、未知な点はまだまだ多い。

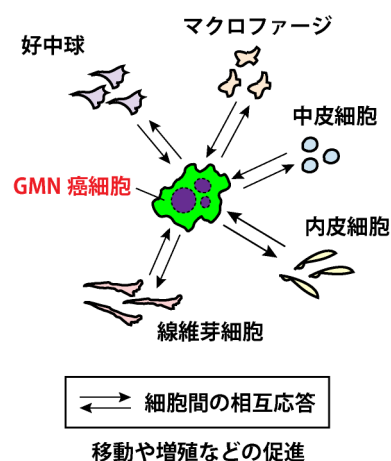
これまで申請者は組織特異的ながん微小環境が癌細胞

の染色体分配異常を導くことを見つけた(2021年、癌学会学術総会と染色体ワークショップにて発表)。本研究では、分配異常により巨核・多核となったGMN癌細胞(Giant/Multi-nucleated Cancer cell)が間質細胞と反応後、より異質な癌細胞へと増殖し、浸潤するメカニズムを検討する。また、がん微小環境が分配異常を導く分子メカニズムを明らかにする。研究成果としてGMN癌細胞はCAF(注釈参照)による上皮間葉転換の誘導を通じて、細胞分裂や腫瘍・浸潤を亢進させ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示唆された。現在、CAF由来の細胞外小胞やサイトカインが、GMN癌細胞の移動・増殖を増大させるメカニズムの特定を進めている(トランスクリプトーム解析データ活用)。

注釈: 癌細胞による刺激後、性質が変化した線維芽細胞(CAF: 癌関連線維芽細胞)。

共同研究では分子腫瘍学研究分野との連携により、GMN癌細胞の染色体分配を追跡した。分配異常に関する研究成果の報告と今後の指針について、田中耕三教授との打ち合わせをe-mailやweb会議により随時進めてきた。

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。

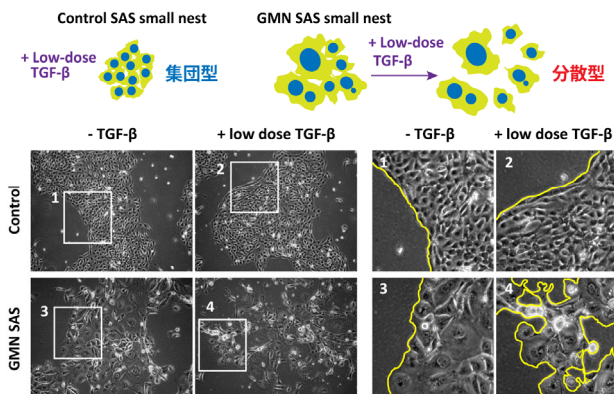


[3] 成果

(3-1) 研究成果

1. 巨核・多核の GMN-SAS 癌細胞はノコダゾール（微小管重合阻害剤）による口腔扁平上皮癌細胞株 SAS の分裂阻害を経過することで産生された。Control SAS と GMN-SAS の遺伝子発現をトランスクリプトーム解析により比較した。また、CAF 由来の培養上清と反応させた GMN-SAS 癌細胞の遺伝子発現変動を qPCR により探索した。さらに、cont-SAS や GMN-SAS 由来の培養上清により刺激した正常線維芽細胞におけるサイトカイン産生を qPCR により検討した。結果、GMN-SAS での固有なサイトカイン産生の向上および、GMN-SAS 応答後の線維芽細胞における炎症性サイトカイン産生の著しい向上を見つけた。これらの発現解析により、GMN 癌細胞を含むがん組織では線維芽細胞を通じた高い炎症反応が考えられた。
2. GMN-SAS の培養上清に含まれる細胞外小胞と可溶性因子を分画し、線維芽細胞に反応させた。Cont-SAS と比較して、両分画ともに線維芽細胞のサイトカイン産生を著しく誘導することを見つけた。さらに、GMN-SAS では細胞外小胞量が高まることを見つけた。巨核・多核癌細胞は固有の炎症性シグナルを有することが明らかとなった。
3. がん組織内で癌細胞は EMT（上皮間葉転換）により、細胞間接着解除や運動性を促進させる。EMT 誘導因子 TGF- β （CAF での産生が報告されている）を GMN-SAS に反応させた場合、cont-SAS よりも低い濃度で EMT を引き起こした（下図）。ウエスタンブロットにより EMT 関連シグナルを調べた結果、GMN-SAS でのシグナル活性は低濃度でも惹起されることが確認できた。巨核・多核癌細胞は CAF と協調してがん組織内で分散しやすい性質があり、がん悪性度を高めることが考えられた。

Low dose TGF- β 添加による TGF- β 感受性の検討



4. 細胞は分裂終盤に細胞質分裂により分割する。娘細胞の両極への移動は細胞質分裂の完了に重要である。CAF の培養上清に反応した GMN-SAS では多

極への移動が活発となることを見つけた。がん組織では巨核・多核癌細胞での分裂が円滑となることでゲノム異常をもつ progeny 細胞が増加し、分散されることを予想している。これまでに巨核・多核癌細胞を含むがん患者の 5 年生存率は有意に低いことが知られている。

(3-2) 波及効果と発展性など

染色体分配や細胞質分裂の失敗は正常細胞のがん化や癌細胞の更なる増悪へとつながる。また近年、癌細胞に応答した間質細胞は癌進展を促進することがわかってきた。これらは一見して独立した研究分野ではあるが、申請者らは細胞分裂異常で産生された GMN 癌細胞では間質細胞との相互作用を一変させ、癌悪性化を加速させるメカニズムを見つけた。共同研究では間質線維芽細胞に着眼したが、がん間質はマクロファージや好中球を含めた多彩な細胞を含むため、GMN 癌細胞とこれら間質細胞との相互作用解析を順次進める予定である。研究成果はすでに学会報告を経て、論文作成の段階にある。GMN 癌細胞は多様であるためがん治療に高い抵抗性を示すが、GMN 癌細胞-間質細胞との応答もまた治療を困難とさせる原因と考えられた。この細胞間応答の遮断を狙った化療を行うことで、がん悪性化を抑える新たながん治療を提言できる。

[4] 成果資料

(1) Cancer-associated fibroblasts educate normal fibroblasts to facilitate cancer cell spreading and T-cell suppression.

Itoh G, Takagane K, Fukushi Y, Kuriyama S, Umakoshi M, Goto A, Yanagihara K, Yashiro M, Tanaka M.

Molecular Oncology. 2022 Jan;16 (1):166-187.

(2) Chromosome alignment-maintaining phosphoprotein CHAMP1 plays a role in cell survival through regulating Mcl-1 expression. Hino M, Iemura K, Ikeda M, Itoh G, Tanaka K. Cancer Science. 2021 Sep;112 (9):3711-3721.

(3) 第 80 回日本癌学会学術総会：口頭発表 Dynamics of giant cancer cells in tumor microenvironment. (がん微小環境における巨大癌細胞の動態) Go Itoh, Masakazu Yashiro, Masamitsu Tanaka. 2021. 9. 30

(4) 第 39 回染色体ワークショップ：口頭発表 腫瘍進行における巨核・多核癌細胞の動態 伊藤 剛・福士 由真・田中 正光.. 2021. 12. 22