

巨核・多核型癌細胞の細胞分裂と腫瘍悪性化との関係

〔1〕組織

代表者：伊藤 剛

(秋田大学大学院医学系研究科・講師)

対応者：田中 耕三

(東北大学加齢医学研究所・教授)

分担者：田中 正光

(秋田大学大学院医学系研究科・教授)

研究費：物件費20万円

〔2〕研究経過

巨核または多核の異常核を持つ癌細胞は、病理学的に 多倍数性巨大癌細胞 (PGCC: Polyploidy Giant Cancer Cell) に分類される。PGCC を含む腫瘍を有する患者では、再発率および死亡率の上昇が報告されている。近年、癌細胞のヘテロジェネイティ (多様性) を解析し、癌の根絶を目指す研究の重要性が高まっている。本共同研究では、薬剤を用いて巨核 PGCC および多核 PGCC をそれぞれ誘導し、各集団における増殖過程や腫瘍形成を解析することで、PGCC を含む腫瘍の悪性化メカニズムの解明を目指す。

以下、研究活動状況の概要を記す。

巨核・多核の巨大な癌細胞 (PGCC) は、脾臓、頭頸部、卵巣、口腔など多くの臓器で観察され、悪性度の高い癌細胞とされる。PGCC の発生には細胞分裂の失敗や細胞融合が関与し、微小管異常や紡錘体チェックポイント分子の欠損により mitotic slippage が生じ、巨核・多核細胞が出現する。

PGCC は 休眠型 (細胞老化) と 増殖型 (細胞分裂や budding 進行) に大別される。分裂中期の染色体分配は、双極性または多極性の様式で進行する。細胞分裂異常によりゲノム情報の不均一性が生じ、多くの細胞は死滅するが、一部は増殖または細胞周期を停止する。巨核・多核癌細胞では大規模なゲノム変異や染色体異常が蓄積し、次世代細胞へ伝わる。

B16マウスメラノーマ細胞を用いた研究では、ノコダゾールにより巨核癌細胞を、タキソールにより多核癌細胞を誘導した。培養実験では、多核癌細胞集団は巨核型に比べて細胞死が多かった。一方、巨核癌細胞では双極性分裂が頻繁に起こり、多極性分裂によって生じた多核細胞で

は細胞死が抑制されていた。

また、ヒト腫瘍組織検体においても巨核癌細胞は多核癌細胞より頻繁に観察され、多核型の細胞は組織内での生存率が低い可能性が示唆された。

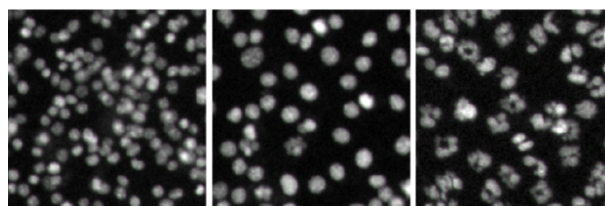
〔3〕成果

(3-1) 研究成果

1. 巨核および多核型癌細胞の細胞分裂と増殖

本研究では、B16マウスメラノーマ細胞をノコダゾール添加によって巨核の癌細胞を、パクリタキセル添加によって多核の癌細胞をそれぞれ誘導した。各細胞の増殖過程を詳細に解析するため、生細胞を2日間にわたり撮影し、その分裂様式を追跡した。

コントロール ノコダゾール添加 パクリタキセル添加



薬剤添加後の B18 細胞における核の様子

ノコダゾールを除去した後、巨核がん細胞は多極性分裂からやがて双極性分裂へと移行し、細胞死は小規模であり、安定して増殖できた。パクリタキセルを除去すると、産生された多核の癌細胞は多極性分裂を経て不均等に分裂し、大規模な細胞死を発生させた。細胞死を回避した細胞は通常の細胞分裂に類似した双極性分裂により増殖した。

2. 巨核および多核癌細胞における遺伝子発現プロファイルの解析

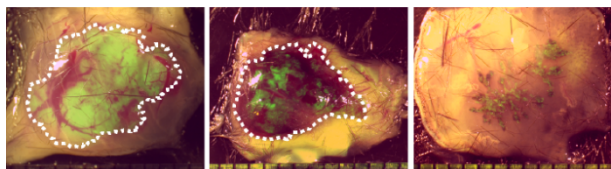
各核型細胞における特有な遺伝子発現を明らかにするため、マイクロアレイ解析を実施した。通常の B16親株細胞、巨核細胞、多核細胞 から mRNA を抽出し、受託解析を依頼した。

既に遺伝子発現プロファイルおよびゲノム変異データを入手しており、現在、差異解析を進めている。解析結果をもとに、各細胞の産生するサイトカインやケモカイン、増殖促進や阻害、細胞死などの腫瘍形成に関わる因子の同定を進めている。

3. 巨大核・多核癌細胞の腫瘍形成の評価

巨核および多核 B16細胞の腫瘍形成能を評価するため、各細胞を C57BL/6マウスの皮下に移植した。観察の結果、多核型細胞では腫瘍形成が著しく低下することが判明した。

コントロール ノコダゾール添加 パクリタキセル添加



薬剤添加後の B18 細胞による腫瘍形成

形成された腫瘍を切除・固定し、HE 染色により腫瘍領域のがん細胞形態を観察した。その結果、腫瘍内では多核型は減衰し、巨核型の細胞へと移行することを見つけた。多核細胞の多くは細胞死を引き起こしていたと考えられるが、一部の巨核細胞は双極性分裂によって増殖していた。一方で、巨核癌細胞は腫瘍内での双極性分裂による安定した増殖が確認された。

これら結果から、多核癌細胞は腫瘍形成に不利な状態にあり、最終的には巨核型の癌細胞へと移行しながら増殖を続けることが想定された。

4. 多核癌細胞の細胞死メカニズムと回避システムの検討

多核癌細胞の細胞死は、核が複数に分割することで、核内シグナル伝達の不全に起因すると考えられた。そこで、核内ゲノムが豊富である巨核細胞を多核化させ、増殖を検証した。この細胞はまず多極性分裂を経て不均等に分裂し、やがて双極性分裂へと分裂様式が移行し、最終的に安定して増殖することを見つけた。

5. 総論：巨核および多核癌細胞の特性を検証した。多核癌細胞は不均等に分裂し、高い頻度で細胞死が生じたが、巨核型の娘細胞(*不等分裂により発生した)では増殖を維持できる可能性が示唆された。一方で、巨核癌細胞が多核化すると速やかに再増殖した。さらに、腫瘍組織では多核癌細胞よりも巨核癌細胞の頻度が高いことが確認された。これらの知見は、腫瘍内での巨核 PGCC の増殖が優位であるという示唆を与えた。

今後、巨核および多核癌細胞に特異的な遺伝子発現の解析を進め、新たな治療標的の開発を目指す。さらに、生体内での免疫組織化学染色を活用し、PGCC の増殖動態の予測を進めることで、臨床応用への道を開く。

共同研究として、染色体分配や染色体構造に関する研究成果の報告を行い、さらに、研究推進

に必要な抗体や分裂期関連遺伝子の発現ベクターの提供を常時受けている。また、今後の指針を田中耕三教授と随時打ち合わせ、その進捗を共有してきた。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究では、巨核および多核 PGCC サブタイプの増殖を追跡し、PGCC による腫瘍悪性化システムを検証した。通常のがん細胞から誘導した多核 PGCC は、増殖能が低く、大規模な細胞死を引き起こした。一方、巨核 PGCC は安定した増殖を示した。

この差異は、多核 PGCC では核が分断されることにより、核内情報の伝達が阻害されるためと考えられる。さらに、巨核 PGCC を多核化させた場合、早期の再増殖が観察された。このことから、巨核 PGCC では分断された核内にも豊富なゲノム情報を保持することで細胞死を抑制し、再増殖することが可能であると考えた。

また、研究の過程で、増殖能を有する巨核 PGCC が腫瘍組織において高頻度に観察されることが明らかとなった。これらの結果は、巨核 PGCC が腫瘍の悪性化において重要な役割を果たしている可能性を示唆しており、本サブタイプを標的とした新たながん治療戦略の開発が求められる。本研究は、PGCC サブタイプの生物学的特性に着目した新規性の高い研究であり、その解明と制御を目指し、今後の共同研究を継続的に遂行する予定である。

[4] 成果資料

(1) 巨核・多核のがん細胞による特有な線維芽細胞サブタイプの産生

日本生化学会東北支部 第91回例会

秋田大学本道40周年記念講堂 2024年6月 (ポスター演題)

伊藤剛、田中正光

(2) Production of unique fibroblast subtypes by polyploid giant cancer cells

第83回日本癌学会学術総会

福岡国際会議場2024年9月 (ポスター演題)

伊藤剛、八代正和、田中正光

(3) 巨核癌細胞と線維芽細胞の細胞間応答による特有な腫瘍内環境の構築

第47回日本分子生物学会年会

福岡国際会議場2024年11月 (ポスター演題)

伊藤剛、八代正和、田中正光