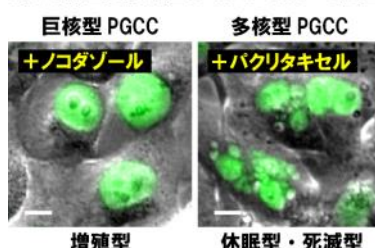


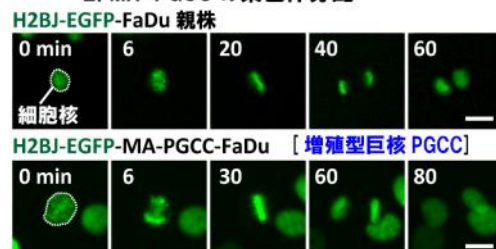
課題番号 4

巨核・多核型癌細胞の細胞分裂と腫瘍悪性化との関係

1. 巨核型と多核型 PGCC-SAS の産生



2. MA-PGCC の染色体分配



[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

がん組織内には、巨核あるいは多核といった異常核形態を示すPGCC (Polyploid Giant Cancer Cell : 多倍数性巨大癌細胞) が存在する。PGCC を含有する腫瘍では再発率および死亡率の上昇が報告されており、悪性化や治療抵抗性との関連が示唆されている。近年、がんへテロジェネイティ克服が重要課題とされる中、PGCC は高度なゲノム不安定性を有する細胞集団として注目されている。

PGCC は細胞分裂異常や mitotic slippage により形成される。これまでの共同研究において、B16 マウスメラノーマ細胞にノコダゾールを処理すると巨核型が、タキソール処理では多核型が誘導された。多核型では細胞死が多く認められた一方、巨核型では双極性(通常型)および多極性(不等分裂)分裂による増殖が確認された。多極性分裂に伴う染色体分配異常は、腫瘍内多様性の拡大に寄与すると考えられた。さらに、ヒト口腔がん組織においても、双極性または多極性分裂過程にある巨大がん細胞の存在を確認した。

以上より、巨核型と多核型 PGCC は生存性および増殖能に本質的差異を有する可能性が示唆された。本研究はこれらの特性を明らかにし、PGCC を標的とした新規治療戦略の基盤構築を目指す。巨核型 PGCC に着目した腫瘍悪性システムは「British Journal of Cancer 誌、2026 年」に共同研究成果として報告した。

[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

A) B16 マウスメラノーマ細胞にノコダゾールを添加して巨核型 PGCC を、パクリタキセルを添加して多核型 PGCC を誘導し、2 日間の生細胞イメージングにより分裂様式および増殖動態を解析した。ノコダゾール除去後、巨核型は多極性分裂を経て双極性分裂へ移行し、細胞死は少なく、安定した増殖を示した。一方、多核型は大規模な細胞死を呈し、生存細胞は休眠状態を示した。

B) 各細胞を C57BL/6 マウス皮下に移植し、移植 10 日後に腫瘍形成能を評価した。その結果、多核型では腫瘍形成能が著しく低下した。一方、巨核型 PGCC は高い腫瘍形成能を維持し、腫瘍組織内において双極性分裂を進行する巨大がん細胞が観察された。

C) 遺伝子発現解析では、親株、巨核型、多核型の各細胞から mRNA を抽出し、マイクロアレイ解析を実施した。発現プロファイルおよびゲノム変異データは取得済みであり、現在、差次的発現解析を進め、細胞分裂、腫瘍形成、細胞死に関与する因子の同定を行っている。さらに、巨核型がん細胞に 5-FU を添加し、抗がん薬抵抗性評価を目的とした遺伝子発現変動解析にも着手している。

2. 増殖性巨核細胞 MA-PGCC による腫瘍悪性化

口腔がんにおける巨核型 PGCC の中から、高い増殖能を有する新規サブタイプ「Mitotically active PGCC (MA-PGCC)」を同定した。

A) 口腔がん症例の約半数に巨核型 PGCC が認められ、その存在は死亡率と相関した。さらに、QuPath を用いた画像解析により、正常上皮細胞の最大細胞サイズを基準とした巨核がん細胞の検出系を確立した。

B) ヒト口腔がん組織において、Geminin 陽性 (G2/M 期) および H3S10 陽性 (分裂期) の巨大がん細胞が確認され、腫瘍内で分裂増殖する巨核型 PGCC の存在が明らかとなった。そこで、この分裂活性を有する PGCC を MA (Mitotically active)-PGCC と命名した。

C) ヒト口腔扁平上皮がん細胞株 SAS を用いた in vitro 実験では、微小管重合阻害剤ノコダゾール処理により MA-PGCC の誘導に成功した。MA-PGCC は FACS 解析やギムザ染色により DNA 含有量、染色体数の増加が確認され、著しい染色体不安定性を示した。また、双極性および多極性分裂の両様式で増殖可能であることが示された。

D) MA-PGCC をマウス皮下へ移植したところ腫瘍形成能を示し、腫瘍内ではがん関連線維芽細胞 (CAF) の増加およびがん細胞との近接が認められた。MA-PGCC に対する遺伝子発現解析 (マイクロアレイおよび qPCR) では、サイトカイン、ケモカイン、腫瘍関連因子の発現上昇が明らかとなり、がん悪性に関与する uPA/uPAR 経路の顕著な活性を見つけた。

E) ウエスタンブロットや免疫染色での解析により、MA-PGCC-SAS 細胞および同細胞由来マウス皮下腫瘍、さらにヒト口腔がん組織の巨核がん細胞において uPAR 発現の増加が確認され、uPA/uPAR システムの腫瘍悪性化への関与が示唆された。

F) uPAR ノックダウン MA-PGCC-SAS をマウス皮下へ移植し、5-FU を投与したところ、対照群と比較して腫瘍増殖は有意に抑制された。これより、MA-PGCC における uPA/uPAR 発現上昇が化学療法抵抗性に寄与する可能性が示された。

共同研究による細胞分裂解析

増殖性 PGCC の解析に不可欠な研究手法について包括的な支援を受けている。具体的には、H2B-EGFP ベクター発現細胞を用いたライブセルイメージングによる染色体分配の解析、ギムザ染色による染色体構造の観察、ならびに FACS を用いた DNA 量解析などに関する研究指導を受けてきた。また、抗体や分裂期関連遺伝子の発現ベクターといった研究ツールの提供も受けている。

今後も田中耕三教授と定期的に打ち合わせを行い、進捗状況を共有しながら、PGCC の細胞分裂メカニズムの解明を進めていく。これにより、巨大がん細胞に特有の分裂機構という新規性の高い研究領域を切り拓き、がん病態に直接関与する悪性細胞の特性を明らかにする。

(3-2) 波及効果と発展性など

巨核型 PGCC は口腔がん患者において決して稀な所見ではなく、全患者の約半数において観察された。本研究では、世界に先駆けて増殖性の巨核型 PGCC を発見し、これを MA-PGCC と命名した (British Journal of Cancer, 2026)。

今後の課題として、腫瘍内に存在する PGCC のうち、どの程度の割合を MA-PGCC が占めるのかを明らかに

するとともに、MA-PGCC の存在とがん特異的死亡率との関連を精密に評価する必要がある。腫瘍内の増殖性 PGCC を同定するためには、G2/M 期マーカーである Geminin 陽性かつ巨大核を有する PGCC を検出することを想定している。

MA-PGCC の増殖様式は、多極性分裂から双極性分裂へと移行する特徴を示した。多くの巨核がん細胞は多極性分裂を介して不均等な娘細胞を産生し、がんのヘテロジェネイティを拡大させると考えられた。一方で、双極性分裂により自己複製を行う巨大核がん細胞も認められ、これらの細胞集団は PGCC の維持・増幅に寄与すると推察された。

これに対し、多核 PGCC は増殖能が低く、広範な細胞死を引き起こす傾向を示した。この差異の要因として、多核 PGCC では核が分断されることにより核内情報伝達が障害される可能性が考えられる。今後は、各核における転写因子や核内移行因子の発現および機能的差異について詳細な検証が必要である。

腫瘍組織内のがん細胞は、多様な核サイズや多核性といった表現型を示す。PGCC は極度の異型核を特徴とする細胞群であり、その内部には複数のサブタイプが存在する可能性が示唆された。がんヘテロジェネイティ克服の観点から、これら PGCC サブタイプを標的とした新規治療戦略の開発が強く求められる。

[4] 成果資料

発表論文 : 申請者、加齢研対応者

Itoh G, Fukushima Y, Takagane K, Kanetaka K, Suzuki H, Kawasaki Y, Kuriyama S, **Iemura K**, **Tanaka K**, Goto A, Tanaka M.

Effects of mitotically active polyploid giant cancer cells on chemoresistance through interaction with cancer-associated fibroblasts.

British Journal of Cancer. 2026 Mar;134(5):707-720.

doi: 10.1038/s41416-025-03317-6.

学会発表

・有糸分裂能を有する巨大癌細胞が癌関連線維芽細胞との相互作用を通じて化学療法耐性に与える影響
第 91 回日本生化学会東北支部例会

東北医薬科大学 2025 年 6 月 (口頭発表)

伊藤剛、田中正光

・口腔扁平上皮癌における replicative PGCCs (rMA-PGCCs) の分裂動態と治療応答の解析
第 43 回染色体ワークショップ・第 24 回核ダイナミクス研究会

宮城県仙台市緑水亭 2026 年 2 月 (ポスター演題)

伊藤剛、堀内春希、田中正光