

がん細胞が産生されたときの生体内反応

東京理科大学生命医科学研究所がん生物学部門

講師 昆 俊亮

哺乳類培養細胞を用いた近年の研究成果により、正常上皮細胞層に少数のがん変異細胞が産生したとき、正常細胞と変異細胞間で互いに生存を争う「細胞競合」現象が生じ、変異細胞は上皮層から排除されることが明らかとなってきた (Hogan *et al.*, Nat Cell Biol, 2009)。具体的には、Ras や Src などががん原遺伝子に変異を有する細胞と正常細胞とを混合培養したとき、隣接する正常細胞との相互作用により変異細胞は管腔側へ押し出されるように逸脱する。このように、正常上皮組織は偶発的に産生された変異細胞(超初期のがん細胞)を認識し排斥することによって、抗腫瘍的な役割を果たすことが分かってきており、正常上皮細胞が有する制がん機能として基礎と臨床の広範な分野より注目されている。

我々の研究グループは、哺乳類生体内においても細胞競合によってがん変異細胞が排除されるかを検証するために、低濃度のタモキシフェン投与によって活性化 Ras 変異細胞を少数誘導することができる細胞競合マウスモデル(Villin-CreERT2/LSL-RasV12 マウス)を作出し、腸管の最終分化細胞である吸収上皮細胞に Ras 変異をモザイクに誘導すると、細胞競合により Ras 変異細胞が管腔へと排除されることを報告した(Kon *et al.*, Nat. Cell Biol., 2017)。続けて、この細胞競合マウスモデルの解析を深化させ遺伝子変異の蓄積による細胞競合の機能変化を検討するため、ヒト家族性大腸がんの初期に変異が好発することが知られている APC 遺伝子の変異マウスを導入した(APCmin/Villin-CreERT2/LSL-RasV12 マウス)結果、APC 変異下では基底膜へとびまん性に浸潤する Ras 変異細胞数が増加することを見出した。さらに変異誘導 30 日後では、小腸絨毛間質内で APC/Ras 変異細胞が胞巣を形成し、またその周辺には腺腫の要素が認められなかったことから、腸粘膜より直接的に発がんすると結論づけた(*de novo*型発がん)。これらの結果より、APC 変異により細胞競合の機能変容が生じ、Ras 変異細胞は基底膜へと浸潤しやすくなることが分かった。この現象を培養細胞で再現するため、APC 変異と同様に Wnt シグナルを活性化する β -catenin 変異体を恒常的に発現する細胞株(β -cat 変異細胞)と β -catenin 変異体を恒常的に発現し、かつテトラサイクリン依存的に活性化 Ras 変異を誘導できる細胞株を樹立した(β -cat/RasV12 変異細胞)。上記細胞株を混合培養し、細胞層形成後、テトラサイクリン添加により Ras 変異を誘導し、マウスと同様の条件を構築した。興味深いことに、 β -cat/RasV12 変異細胞の単独培養時にはコラーゲン層への浸潤は認められなかったが、混合培養時にコラーゲン層へと浸潤する β -cat/RasV12 変異細胞が著しく増加し、マウスで観察された事象を再現することに成功した。そこで、 β -cat 変異細胞との混合培養時特異的に β -cat/RasV12 変異細胞内で発現変動を示す遺伝子を探索するためトランスクリプトーム解析を行なった結果、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)ファミリーの一つである MMP21 が著増することを突き止めた。

また、腸管オルガノイドを用いた実験結果からも、APC/RasV12 変異細胞における MMP21 の細胞非自律的な発現増加が確認できた。がん細胞の基底膜浸潤における MMP21 の機能的な重要性を評価するために、CRISPR/Cas9 によって MMP21 をノックアウトしたところ、 β -cat/RasV12 変異細胞の浸潤率が有意に低下したことから、MMP21 が変異細胞のびまん性浸潤を制御する分子の一つであることが示された。また、TCGA の胃がんデータベースによると、乳頭腺型胃がんや管状腺型胃がんに対して、びまん型胃がんにおいて MMP21 の発現量が増加していた。さらに MMP21 の発現量と生存率との関係を調べてみたところ、管状腺型胃がんでは相関関係が認められなかったのに対し、びまん型胃がんでは相関していた。これらのヒト分子病理学的知見より、びまん性発がんの進展において MMP21 が重要な役割を担っていることが示唆された。

また、上述した *de novo* 発がんマウスモデルは、腺腫などの前がん病変を伴わず、正常腸粘膜より直接的に発がんするため、これまでに適切な系が確立されていない「正常間質からがん間質への転化」を観察するために最適なモデルであると考えられる。一般的に、組織が前がん病変に移行すると、上皮細胞層が構造的に脆弱になることに加え、慢性炎症の惹起等、周辺微小環境が劇的に変化するため、真に正常間質の機能を反映しているかは判断が困難であった。本マウスモデルでは、正常粘膜層からまさにがん細胞が正常間質組織内に出現した瞬間を観察できるため、がん細胞と正常間質細胞との多細胞間ネットワークを解析するのに適しているため、現在は生体内ライブイメージングの観察プラットフォームを鋭意立ち上げている。将来的には、このマウスモデルを用いて「がんが誕生する瞬間」の世界初の可視化を実現させ、高次の研究局面へと発展させていきたい。

【参考文献】

- 1) Hogan, C., Dupre-Crochet, S., Norman, M. et al.: Characterization of the interface between normal and transformed epithelial cells. Nat. Cell Biol., 11, 460-467 (2009)
- 2) Kon, S., Ishibashi, K., Kato, H. et al.: Cell competition with normal cells promotes apical extrusion of transformed epithelial cells through metabolic changes. Nat. Cell Biol., 19, 530-541 (2017)

【略歴】

学歴

- 1998年3月 愛媛県立松山東高校 卒業
- 2003年3月 東北大学工学部化学バイオ科 卒業
- 2008年3月 東北大学生命科学研究科 博士後期課程(生命科学博士) 修了

職歴

- 2008年4月 東北大学加齢医学研究所 博士研究員 (佐竹 正延 教授)
- 2009年4月 東北大学加齢医学研究所 助教 (佐竹 正延 教授)
- 2013年7月 北海道大学遺伝子病制御研究所 助教 (藤田 恭之教授)
- 2017年7月 北海道大学遺伝子病制御研究所 講師 (藤田 恭之教授)
- 2018年4月 東京理科大学生命医科学研究所 講師

学会

日本細胞生物学会、日本癌学会、日本分子生物学会

受賞

- 2014年 がん若手研究者ワークショップ最優秀演者賞
- 2017年 日本細胞生物学会若手最優秀発表賞