

令和 6 年 5 月 18 日現在

機関番号：33302

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H05127

研究課題名（和文）脳腫瘍圧縮力が腫瘍細胞の増殖におよぼす効果と分子機序の解明

研究課題名（英文）Compressive stress against brain tumors: its effect on tumor cell growth and the underlying molecular mechanism

研究代表者

平田 宏聡 (Hirata, Hiroaki)

金沢工業大学・バイオ・化学部・教授

研究者番号：90414028

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 23,000,000円

研究成果の概要（和文）：がん細胞の増殖が隣接細胞間の力のやり取りによって制御されることが2次元培養系での研究で報告されている。しかし、3次元組織中での腫瘍と周囲組織との力学相互作用の実態と、それが腫瘍細胞の増殖に及ぼす影響は不明であった。本研究では、3次元細胞外基質中において、成長過程のがん細胞塊と周囲の細胞外基質との力学相互作用の可視化定量に成功した。細胞外基質中で成長し体積を増大させているがん細胞塊は、周囲の基質を押し出すのではなく引き寄せ続けているという予想外の結果を得た。この細胞外基質の牽引にはミオシンによる力発生が関与していることが示唆され、これを阻害することでがん細胞塊の成長が抑制されることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、3次元環境でのがん細胞塊とそれを取り囲む細胞外基質との間の予想外の力学相互作用を明らかにすることができた。この力学相互作用ががん細胞塊の成長に関わっていることを示唆する結果も得られたことから、今後、力学相互作用を調節/操作する手法を開発することでがんの新規抑制・治療法の開発へつながることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Research using 2D culture systems has reported that proliferation of cancer cells is regulated by forces acting between neighboring cells. However, mechanical interactions between tumors and surrounding tissues in the 3D environment, and their impact on tumor cell proliferation, have remained unclear. In this study, we successfully visualized and quantified the mechanical interactions between growing cancer cell masses and the surrounding 3D extracellular matrix. Contrary to expectations, cancer cell masses growing within the extracellular matrix were found to continuously drag, rather than push, the surrounding matrix. It was suggested that myosin-generated force was involved in this dragging of the matrix, and inhibiting this process was suggested to suppress the growth of cancer cell masses.

研究分野：メカノバイオロジー

キーワード：メカノバイオロジー 腫瘍細胞塊 三次元培養 スフェロイド 細胞増殖 力学相互作用

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腫瘍の形成・発達は、腫瘍周囲の組織を圧迫し、その反作用として腫瘍そのものに圧縮力を生じさせると想像される(図1)。一方で、研究代表者はこれまでに、細胞間の接着構造であるアドヘレンスジャンクション(adherens junction; AJ)に結合しているアクチンフィラメントの収縮によりAJに隣り合う細胞から引張力がかかることが細胞増殖を抑制することを発見・報告してきた(Hirata et al., Sci Rep, 2017; Dobrokhotov et al., Front Cell Dev Biol, 2021)。したがって、腫瘍にかかる圧縮力は、細胞間の側方圧を上昇させAJに作用する引張力を低減させることで、腫瘍細胞の増殖を促進する可能性が考えられた。しかし、三次元組織中での腫瘍と周囲組織との力学相互作用の実態と、それが腫瘍細胞の増殖に及ぼす影響は不明であった。

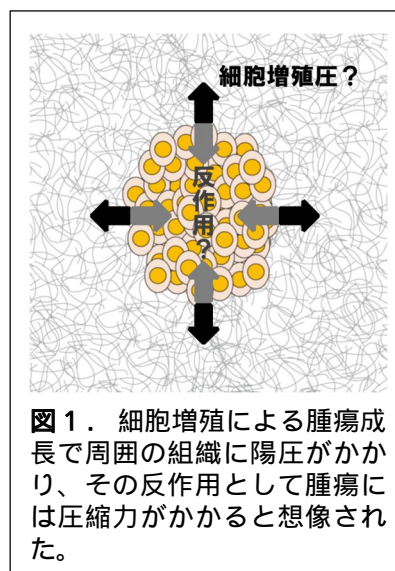


図1. 細胞増殖による腫瘍成長で周囲の組織に陽圧がかかり、その反作用として腫瘍には圧縮力がかかると想像された。

2. 研究の目的

本研究では、成長時の腫瘍細胞塊が周囲組織とどのような力学相互作用をしているのか明らかにし、その力学相互作用が腫瘍細胞の増殖に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。この目的のため、三次元細胞外基質中にがん細胞塊を培養し、細胞塊の成長にともなって三次元細胞外基質中に加えられる力学負荷を経時評価できる新規実験系を構築するとともに、力学負荷を人為的に変動させた際にがん細胞塊の成長がどのような影響を受けるのか調べることにした。

3. 研究の方法

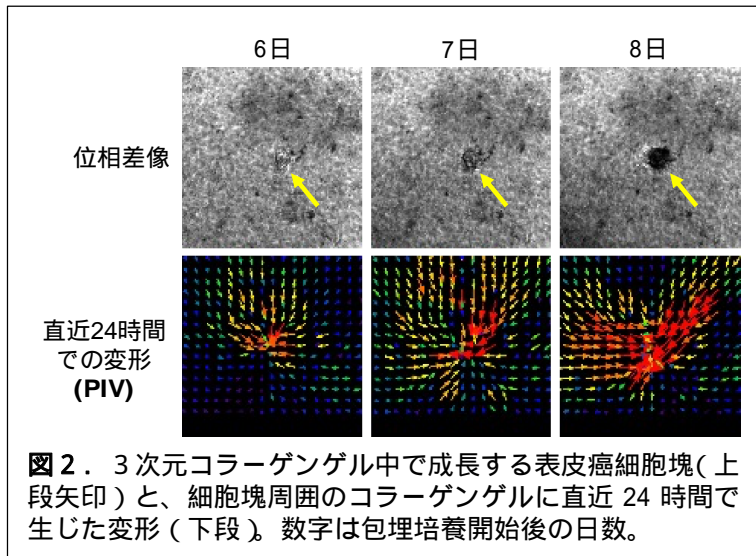
3次元細胞外基質とがん細胞塊との間の力学相互作用を可視化・定量するため、蛍光ビーズを分散させた3次元コラーゲンゲル中にヒト皮膚扁平上皮癌細胞(A431細胞株)をまばらに包埋培養し、がん細胞塊の成長過程におけるゲル中ビーズ分布の蛍光画像を30分おきに取得した。この蛍光ビーズの時系列画像に粒子画像流速計測法(PIV)を適用することで、一定時間間隔ごとのコラーゲンゲルの変形場を導出した。また、がん細胞塊の位相差画像を同時に取得することで細胞塊の成長を定量評価した。コラーゲンゲル中で成長するがん細胞塊を長時間ライブイメージングするため、観察は長深度蛍光顕微鏡を細胞培養インキュベーター内に設置して行った。

4. 研究成果

3次元コラーゲンゲル中にヒト皮膚扁平上皮癌細胞(A431細胞)をまばらに包埋し、5日間培養してがん細胞塊を形成させた後、10日に渡ってがん細胞塊の位相差画像とゲル中に分散した蛍光ビーズの蛍光画像を30分おきに取得した。各時刻での細胞塊断面積の定量結果から、細胞塊が観察期間に渡って成長していることが確認された。一方で、蛍光ビーズ画像に対するPIV解析から24時間ごとのコラーゲンゲルの変形を評価したところ、予想に反し、がん細胞塊の成長とともに周囲のコラーゲンゲルは細胞塊から押されるのではなく細胞塊に向けて継続的に引

き寄せられ続けていることが明らかとなった(図2)。

がん細胞塊の体積がコラーゲンゲル中で増大しているにも関わらず周囲のゲルを押し出すのではなく牽引する仕組みを明らかにするため、細胞内の主要な収縮力発生装置であるアクチン・ミオシン系の関与を調べた。ミオシンの主要な活性化分子である Rho キナーゼを Y-27632 により特異的に



阻害したところ、がん細胞塊に向けたコラーゲンゲルの引張変形がほぼ見られなくなったことから、ミオシンによる力の発生が周囲のゲルの牽引に関与していることが示唆された。これとともに、Rho キナーゼ阻害下では、がん細胞塊の成長が大幅に抑制された。このことから、がん細胞塊による周囲の3次元細胞外基質への牽引力負荷ががん細胞塊の成長に関与している可能性が考えられた。今後はこの可能性を検証するため、がん細胞塊が包埋されたコラーゲンゲルを外部から引張伸展し、がん細胞塊と3次元細胞外基質との間に働く引張力を人為的に増大させた場合のがん細胞塊成長に及ぼす効果を調べる予定である。

本研究では、10日間に渡ってがん細胞塊が周囲のコラーゲンゲルを引き寄せ続けることが観察された。すなわち、連続体力学の観点では、がん細胞塊はコラーゲンゲルの「吸い込み」として機能している。コラーゲンが集積し続ける状況でがん細胞塊がいかに「吸い込み」として持続的に機能できるのか検討するため、がん細胞塊の領域内外でのコラーゲンゲルの振る舞いを比較した。すると、がん細胞塊に向けて引き寄せられたコラーゲンゲル中の蛍光ビーズはがん細胞塊領域に達するとランダムに動き回るようになることが観察された。このことは、がん細胞塊領域でコラーゲンゲルが分解されている可能性を示唆する。そこで今後は、がん細胞のマトリックスメタロプロテアーゼによるコラーゲン分解を阻害した場合に、がん細胞塊によるコラーゲンゲルの牽引とがん細胞塊の成長がどのような影響を受けるか解析を進める。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Torii Takeru, Sugimoto Wataru, Itoh Katsuhiko, Kinoshita Natsuki, Gessho Masaya, Goto Toshiyuki, Uehara Ikuno, Nakajima Wataru, Budirahardja Yemima, Miyoshi Daisuke, Nishikata Takahito, Tanaka Nobuyuki, Hirata Hiroaki, Kawauchi Keiko	4. 巻 14
2. 論文標題 Loss of p53 function promotes DNA damage-induced formation of nuclear actin filaments	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Death and Disease	6. 最初と最後の頁 766
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41419-023-06310-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Katsuta Hiroki, Okuda Satoru, Nagayama Kazuaki, Machiyama Hiroaki, Kidoaki Satoru, Kato Masashi, Sokabe Masahiro, Miyata Takaki, Hirata Hiroaki	4. 巻 26
2. 論文標題 Actin crosslinking by α -actinin averts viscous dissipation of myosin force transmission in stress fibers	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 106090 ~ 106090
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.106090	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirata Hiroaki, Nakazawa Naotaka, Hirashima Tsuyoshi, Ravasio Andrea	4. 巻 11
2. 論文標題 Editorial: Multicellularity: Views from cellular signaling and mechanics	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 1172921 ~ 1172921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2023.1172921	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Dobrokhotov Oleg, Sunagawa Masaki, Torii Takeru, Mii Shinji, Kawauchi Keiko, Enomoto Atsushi, Sokabe Masahiro, Hirata Hiroaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Anti-Malignant Effect of Tensile Loading to Adherens Junctions in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 728383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2021.728383	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 平田宏聡、Oleg Dobrokhotov、曾我部正博
2. 発表標題 Distinct roles of cell-cell and cell-ECM adhesions in mechanical regulation of epidermal cancer cell proliferation
3. 学会等名 日本生物物理学会第61回年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 勝田紘基、奥田覚、長山和亮、町山裕亮、加藤昌志、曾我部正博、宮田卓樹、木戸秋悟、平田宏聡
2. 発表標題 alpha-アクチニンによって調節されるストレスファイバーの物性はミオシン由来の力の伝達効率を調節する
3. 学会等名 日本生物物理学会第61回年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 勝田紘基、奥田覚、長山和亮、町山裕亮、木戸秋悟、宮田卓樹、曾我部正博、平田宏聡
2. 発表標題 alpha-アクチニンはストレスファイバーのメカニクスを変化させることで収縮力の伝達を調節している
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 平田宏聡
2. 発表標題 細胞接着境界の力学状態による表皮がん細胞の増殖制御
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 野々村恵子、岡本麻友美、平田宏聡、中澤直高
2. 発表標題 PIEZ01メカノセンサーチャネルの脳発生における役割の解析
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroaki Hirata
2. 発表標題 Intercellular force dictating proliferative abilities of epidermal cells
3. 学会等名 9th World Congress of Biomechanics（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 勝田紘基、奥田覚、長山和亮、町山裕亮、木戸秋悟、加藤昌志、曾我部正博、宮田卓樹、平田宏聡
2. 発表標題 張力繊維に沿った力の伝達効率 α -アクチニンの架橋によって変化する機械的特性に依存している
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平田宏聡、Oleg Dobrokhotov、曾我部正博
2. 発表標題 表皮細胞単層中での細胞周期進行と細胞運動の協調制御：細胞間接着とRac1の役割
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 勝田紘基、長山和亮、清島大資、町山裕亮、曾我部正博、宮田卓樹、平田宏聡
2. 発表標題 細胞内の力の伝達経路としてストレスファイバーに必要な機械的性質
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Hiroaki Hirata, Masahiro Sokabe	4. 発行年 2022年
2. 出版社 The Royal Society of Chemistry	5. 総ページ数 21
3. 書名 Material-based Mechanobiology, CHAPTER 4 Measurement and Manipulation of Cellular Forces Using Silicone Elastomers	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関