

令和元年6月4日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H06222

研究課題名(和文)死にゆくがん細胞が発信するがん制御ネットワーク機構の遺伝的基盤

研究課題名(英文)Genetic basis of cancer progression by dying tumor cells

研究代表者

榎本 将人(Enomoto, Masato)

京都大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：00596174

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,300,000円

研究成果の概要(和文)：がん組織には異なる腫瘍細胞集団が不均一に存在していることが分かってきた。しかしながら、腫瘍内の微小環境がどのようにがん進展を制御しているか、そのメカニズムには不明な点が多い。本研究では、ショウジョウバエ上皮においてSrc活性化細胞集団の中で細胞死を引き起こした細胞が周囲のRas活性化細胞に腫瘍悪性能を誘発することを明らかにした。さらに悪性化したRas活性化細胞はSrc活性化細胞と互いに相互作用し合いつつ隣接組織へと浸潤していくことを見出し、その分子メカニズムを明らかにした。このことは、死細胞を起点とした異なる腫瘍細胞は互いに相互作用を介して悪性化腫瘍へと変化していることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、死にゆく腫瘍細胞がその死と引き換えに周囲の腫瘍細胞に悪性能を誘発するという新しいがん制御メカニズムを明らかにした。このような細胞死を起点とした細胞間コミュニケーションによるがん制御システムの理解は、新たながん治療戦略や抗がん剤開発の基盤になることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Although it has been recently shown that distinct oncogenic cell clones heterogeneously exist in cancer tissues, it is still poorly understood how tumor-microenvironment causes cancer progression. To elucidate the underlying mechanism, I recapitulated tumor heterogeneity in *Drosophila* epithelium and genetically analyzed cell-cell interaction of distinct oncogenic cell populations *in vivo*. In this research, I found that dying Src-activating cells transform surrounding Ras-activating cells to malignant tumors via cell-cell interaction. Furthermore, I also found that malignant Ras-activating cell clones provide metastatic behaviors to surviving Src-activating cells, thereby two oncogenic cell populations mutually invade the adjacent tissues. These findings suggest that two distinct oncogenic cells mutually develop into malignant tumors via cellular cooperation triggered by dying oncogenic cells.

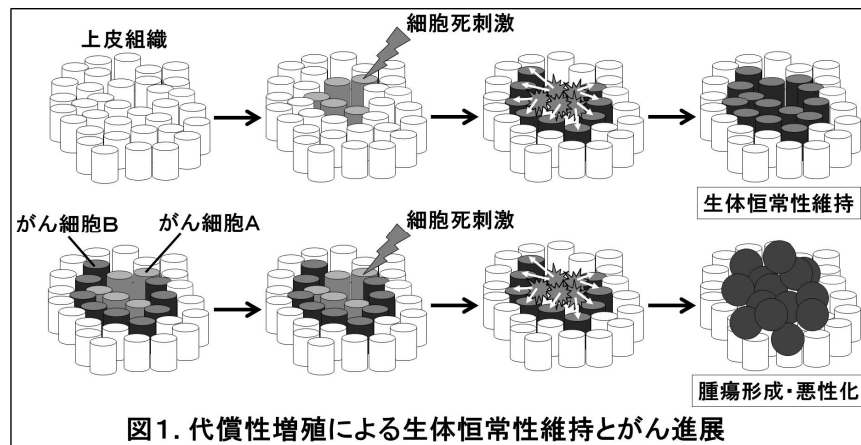
研究分野：細胞生物学

キーワード：がん 死細胞 シグナル伝達 ショウジョウバエ 細胞間相互作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

組織において細胞死を引き起こした細胞は単に排除されるだけではなく、周辺細胞にシグナルを発信することで組織の正常発生や生体の恒常性維持を制御していることが近年わかってきた。このような死細胞が駆動する細胞間ネットワークの一つに「代償性増殖」という現象が知られている。代償性増殖は、ショウジョウバエ上皮組織の発生中に人為的な細胞死誘導によって失われた細胞が同一組織内の他の細胞の代償的な増殖によって補われる現象として 1970 年代に発見された (Haynie and Bryant, *Wilhelm Roux's arch Dev Biol*, 1977)。その後、代償性増殖の分子実体は長らく不明であったが、2000 年以降にショウジョウバエ遺伝学的技術が進歩したことで、代償性増殖の実体が死にゆく細胞が分泌する Wingless (Wnt ホモログ) や Dpp (BMP/TGF- β ホモログ) といった増殖因子であることがわかってきた (reviewed in Pérez-Garijo and Steller, *Development*, 2015)。さらに、代償性増殖は哺乳類においてもその存在が明らかになり正常発生や損傷治癒後の応答に重要な役割を担っていることがわかってきた (図 1 上段)。最近、このような生体恒常性維持機構としての代償性増殖システムががんの発生・進行にも関わっている可能性が示唆されている。例えば、マウス肝細胞がんモデルにおいて死にゆく肝細胞は周辺のクッパー細胞 (マクロファージの 1 種) に作用して肝細胞増殖や腫瘍形成を促すことが示されている (Maeda *et al*, *Cell*, 2005; Sakurai *et al*, *Cell*, 2008)。また、X 線照射により細胞死刺激を誘導した死にゆく細胞が周辺のがん細胞の増殖を促すことが示されており、このことは放射線治療後に死滅せず生存したがん細胞が代償性増殖を介してがん再発を促している可能性を示唆している (Huang *et al*, *Nat. Med.*, 2011)。また、がん組織において細胞死と細胞増殖が正の相関を示すことも報告されており、がん組織を構成する細胞の「死」ががん進展を促す要因になると考えられる (図 1 下段)。しかしながら、代償性増殖によるがん進展制御の分子基盤はよくわかっていない。その理由として、がん組織は機能的・性質的にヘテロな細胞集団で構成されており、このような遺伝的不均一性をもつがん組織中で起こる細胞死のアウトプット (腫瘍形成や腫瘍悪性化) の解析が困難であったことが挙げられる。



2. 研究の目的

本研究では、代償性増殖によるがん進展制御の分子機構を理解するためにショウジョウバエ遺伝学を駆使することでショウジョウバエ上皮に腫瘍内不均一性を再現し、“死にゆくがん原性細胞”と“腫瘍細胞”間で起こるシグナルネットワークを生体レベルで捉え、死にゆくがん原性細胞を起点とした細胞間コミュニケーションを介したがん進展制御の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

死にゆくがん原性細胞によるがん進展制御のメカニズムを解析するためには、生体内で腫瘍内不均一性を再現し異なる細胞同士の相互作用を高感度に検出し解析できる優れたモデル系の構築が必要である。そこで、本研究ではショウジョウバエで利用可能な 2 種類の遺伝子発現制御システム (酵母由来 Gal4/UAS システム・赤パンカビ由来 QF/QUAS システム) を同時に適用することで生体内に 2 種類の細胞集団をモザイク状に誘導することができる Coupled-MARCM 法 (Potter *et al*, *Cell*, 2010) を用いることで上皮組織に異なる遺伝的背景をもつ細胞集団を誘導した。これまでの解析からショウジョウバエ上皮である複眼原基にがん遺伝子 Src を活性化させた細胞集団を野生型細胞と共存するように誘導すると、Src 活性化細胞集団の一部の細胞は細胞死を引き起こし組織から排除されることが分かっている (Enomoto *et al*, *Dev Biol*, 2015; Enomoto and Igaki, *EMBO Rep*, 2013)。そこで上述の Coupled-MARCM 法を用いて、がん遺伝子である Src を活性化させた細胞集団の周辺細胞にがん原性の突然変異を導入する遺伝学的スクリーニングを実施し、死にゆくがん原性細胞と相互作用することで腫瘍悪性化能を獲得する因子を探索・同定し、そのメカニズムを遺伝学的手法・器官培養ライブイメージング手法で解析した。

4. 研究成果

Coupled-MARCM 法を用いてショウジョウバエ上皮である複眼原基に誘導したがん遺伝子 Src

活性化細胞集団の周辺細胞に種々のがん遺伝子の活性化を誘導し、死にゆく Src 活性化細胞と相互作用することで腫瘍悪性化を引き起こすがん遺伝子を探索した。その結果、Src 活性化細胞集団の隣接細胞に Ras の活性化 (RasV12) が生じると、Ras 活性化細胞集団は過剰に増殖し隣接組織である中枢神経系へと浸潤・転移する腫瘍悪性化能を獲得した。このような Ras 活性化細胞集団の腫瘍形成・悪性化能が Src 活性化細胞に生じる '細胞死' に依存しているかを確認するために、Ras 活性化細胞を野生型細胞と共存するように複製原基に誘導し、野生型細胞にのみ遺伝学的に細胞死を誘導した。その結果、Ras 活性化細胞は野生型細胞で細胞死シグナルが活性化しただけでは腫瘍悪性化能を獲得できなかった。このことは、Src 活性化細胞内の細胞死シグナルが Src 活性と協調することで Ras 活性化細胞に細胞非自律的に腫瘍悪性化能を付加させたことを示している。ここで興味深いことに、悪性化した Ras 活性化細胞は近接する生存 Src 活性化細胞に対して腫瘍悪性化能を誘発し、互いに相互作用し合いながら隣接組織へと浸潤・転移した。さらに、その分子メカニズムを遺伝学的に解析したところ、Notch シグナルと JAK-STAT シグナルが互いの細胞集団の境界上で活性化しており、これらの細胞間シグナルネットワークによって異なる 2 種類の腫瘍細胞集団は互いに腫瘍悪性化能を引き起こし合うことが分かった。

以上の結果より、死にゆくがん原性細胞を起点してヘテロな腫瘍細胞が互いに相互作用し合うことで悪性化腫瘍へと変化していくことが分かった。このことは、腫瘍内不均一性によるがん進展の新たな制御機構の存在を示唆しているといえる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Masato Enomoto, Carmen Siow, Tatsushi Igaki, *Drosophila as a cancer model*, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1076, 173-194, 2018
10.1007/978-981-13-0529-0_10 査読なし

〔学会発表〕(計 13 件)

Masato Enomoto, Tatsushi Igaki, *Cell-to-cell propagation of JNK signaling controls tissue remodeling during wound healing*, 第 13 回日本ショウジョウバエ研究会 (JDR13), 2018

Seulki Kim, Sohta Arai, Masato Enomoto, Tatsushi Igaki, *A genetic screen for tumor progression by cellular cooperation*, 第 13 回日本ショウジョウバエ研究会 (JDR13), 2018

Masato Enomoto, Tatsushi Igaki, *Cell-to-cell propagation of JNK signaling control tissue repair and regeneration*, 第 70 回日本細胞生物学会大会, 2018

榎本 将人, 細胞間シグナルネットワークによる創傷治癒制御、第 3 回京都皮膚基礎研究会、2018

榎本 将人, 本田 直樹、武本 花奈美、竹本 大策、井垣 達吏、細胞間コミュニケーションによるがん進展制御、2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 2017

新井 聡太、Kim Seulki、榎本 将人、井垣 達吏、細胞間の競合と協調によるがん制御を駆動する因子の遺伝学的スクリーニング、2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 2017

Seulki Kim, Sohta Arai, Masato Enomoto, Tatsushi Igaki, *Genetic screen in Drosophila for tumor progression through cell-cell communication*, 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 2017

榎本 将人、井垣 達吏、死細胞が発信する細胞間シグナルネットワークによる創傷治癒制御、第 26 回日本 Cell Death 学会学術集会、2017

榎本 将人, *Src drives cell-to-cell propagation of JNK signaling to control tumorigenesis and regeneration*, 日本発生物学会 秋季シンポジウム、2016

Masato Enomoto, Naoki Honda, Daisaku Takemoto, Tatsushi Igaki, *Genetic and mathematical dissection of tumor heterogeneity that causes cancer progression*, 第 12 回日本ショウジョウバエ研究会 (JDR12), 2016

Masato Enomoto, Naoki Honda, Daisaku Takemoto, Tatsushi Igaki, *Genetic and mathematical dissection of tumor heterogeneity that triggers cancer progression*, The Allied Genetics Conference 2016, 2016

榎本 将人、竹本 大策、井垣 達吏、がん遺伝子活性の不均一性による腫瘍悪性化、第 68 回日本細胞生物学会・第 11 回日本ケミカルバイオロジー学会合同大会、2016

Masato Enomoto, Daisaku Takemoto, Tatsushi Igaki, Tumor progression by heterogeneity of cell clones with distinct oncogenic activities, The 2nd Cell competition International symposium, 2016

〔図書〕(計 3 件)

榎本 将人、井垣 達吏、京大発！フロンティア生命科学（講談社）細胞周期とがん、2018、157-168

辻 椋矢、榎本 将人、動物 / 疾患モデルの作製技術・病態解析・評価手法（技術情報協会）がんの発生・進展機構の解明と治療薬開発への応用、2017、147-153

榎本 将人、生体の科学（医学書院）細胞競合と代償性増殖における JNK シグナルの役割、2016、101-106

6 . 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。