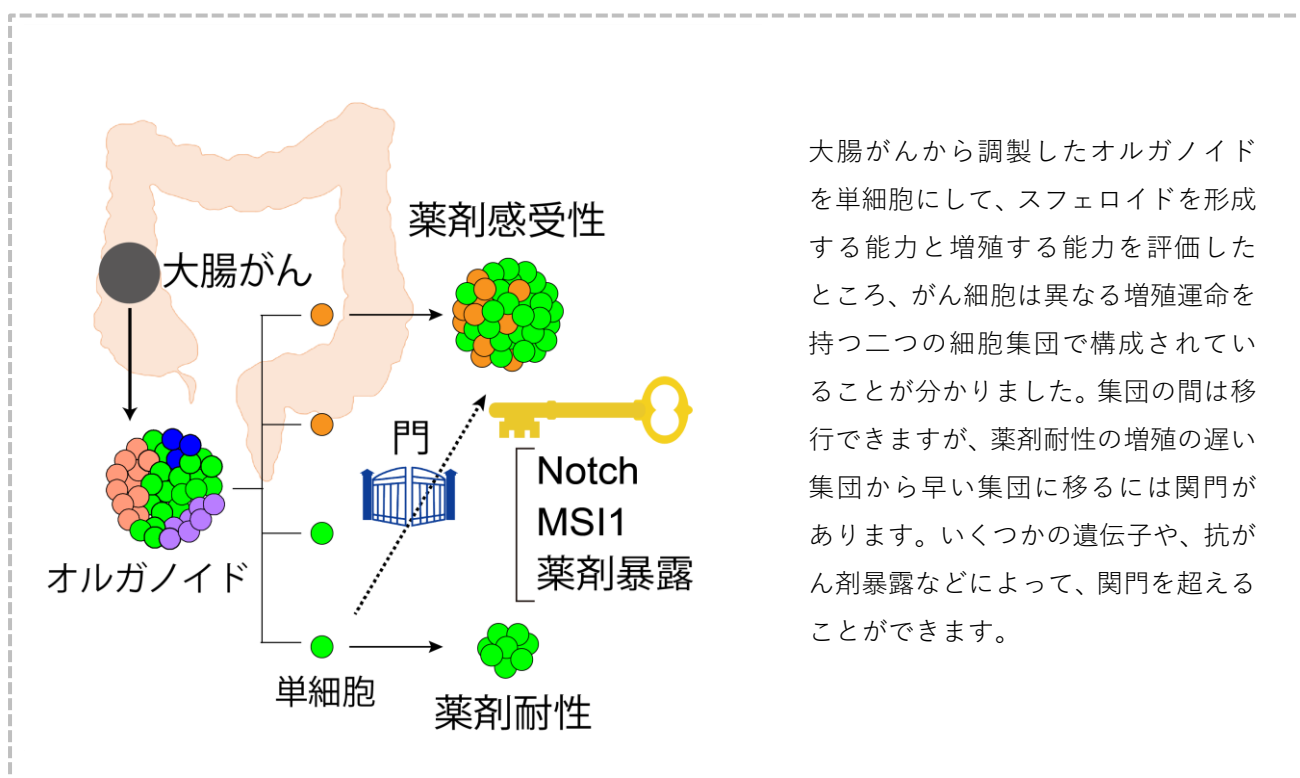


大腸がん細胞の増殖運命の違いと薬剤感受性

—その柔軟性を決めるメカニズム—

概要

がん細胞は同じ腫瘍内にあっても非常に多様です。遺伝子の変異やがん細胞のおかれている環境の差などによって不均一性がもたらされ、そのことががん治療の大きな障壁になっています。遺伝子変異による差は解析法の進歩によって研究が進んでいますが、遺伝子変異によらない差については未だ全貌が明らかにされていません。京都大学大学院医学研究科 井上正宏特定教授、小濱和貴同教授、鎌田真由美同准教授、大阪大学蛋白質研究所 岡田眞里子教授、大阪国際がんセンター大植雅之外科部長らの研究グループは、個々の大腸がん細胞が、どのような細胞増殖の運命をたどるかを解析し、大腸がん細胞は、はっきりと区別できる増殖運命を持つがん細胞集団が、分子レベルで制御されて柔軟に入れ替わっていることを突き止めました。また、薬剤耐性の元となる増殖の遅い細胞を分離して培養することに成功しました。今回の発見は がんの薬物療法耐性や治療後の再発などのメカニズムの解明と、それを標的とした治療法への応用が期待されます。本成果は、2023年1月13日に米国の国際学術誌「*iScience*」にオンライン掲載されました。



1. 背景

これまでの抗がん剤による治療法は、主に増殖の速いがん細胞に対して設計・開発されているため、静止しているがん細胞や増殖の遅いがん細胞の重要性は見落とされてきました。これらの増殖能の低いがん細胞は、抗がん剤治療後も生き残り、増殖能の高いがん細胞を生み出して、治療抵抗性や再発の源となる可能性があります。

同じ腫瘍内であってもがん細胞は非常に多様です。遺伝子変異やがん細胞のおかれている環境の差などによって多様性がもたらされ、そのことががん治療の大きな障壁になっていることが知られています。遺伝子変異を伴わない多様性を説明しようとする理論の一つに、がん幹細胞仮説（※1）があります。最近、がん細胞が幹細胞らしくない状態から幹細胞のような状態へとダイナミックに移行することが証明されました。つまり、がんの幹細胞らしさは正常組織の単純なアナロジーでは理解することはできません。

ここ数年間で、患者さんの腫瘍からがん細胞を3次元培養する技術が飛躍的に進歩しました。私たちが開発したCTOS法（※2）でがん組織から取り出したオルガノイド（※3）を培養すると（図1）、それぞれの大腸がんオルガノイドの増殖能は大きく異なります。このような現象は従来の樹立細胞株では観察されません。

最近、単一細胞レベルで遺伝子発現を解析できるようになり、増殖の遅いがん細胞の研究が進み始めました。しかし、このような手法は解析した瞬間の「スナップショット」的な情報なので、刻々と変化するがんの特性や解析した後どのような運命をたどるのかを正確にとらえることは困難です。そこで私たちは、がん細胞一個一個の増殖運命を追跡することにしました。

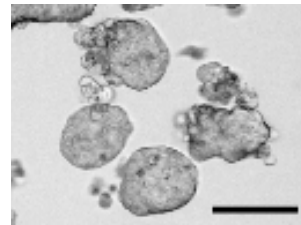


図1

CTOS法で調製した大腸がんの塊を3次元培養したものの（オルガノイド）。スケールバーは100 μ m。

2. 研究手法・成果

まず、大腸がんオルガノイドを構成するそれぞれの細胞の増殖運命を追跡するために、オルガノイドを単細胞にして厳密に単細胞であることを確認し、それぞれが成長して球状の構造物（スフェロイド）を作る速さ、つまり増殖能を判定する方法を開発しました。その結果、スフェロイド形成能（※4）のある大腸がん細胞は、それぞれの増殖能が大きく異なることがわかりました（図2）。小さいスフェロイドを形成する細胞（増殖の遅い細胞、S細胞）からは分裂後もS細胞だけが生まれるのに対して、大きいスフェロイドを形成する細胞（増殖の速い細胞、L細胞）からはS細胞とL細胞の両方が生まれます（図3、図4）。つまり、増殖の運命という点では、大腸がん細胞は二つのグループに分かれることになります。一つのL細胞を起源とするオルガノイドにはS細胞とL細胞の両方が含まれることから、S細胞とL細胞の区別は遺伝子変異の差によるものではないと言えます。

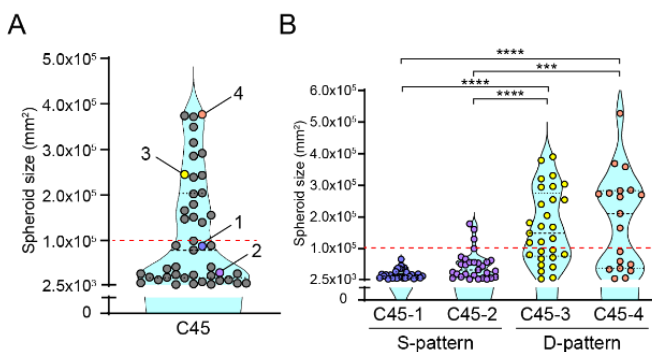


図2

A それぞれの大腸がん細胞には大きな増殖能の差があります。

B S細胞（図Aの1, 2）からはS細胞だけが生まれ、L細胞（図Aの3, 4）からはL細胞とS細胞の両方が生まれます。

S細胞は単離するとS細胞にしかならないのですが、マウスに移植して腫瘍を作らせたり、L細胞と混ぜて培養したりすることでL細胞を生むようになります。遺伝子発現解析の結果、大腸がんのがん幹細胞マーカーと呼ばれているほとんどの遺伝子は、S細胞かL細胞のどちらかで高い傾向がありました。その中で、S細胞ではNotchシグナルやMSI1の活性が低いことがわかりました。Notchシグナルを抑制した場合、あるいはMSI1が発現していなければ、L細胞はS細胞しか生まなくなり、MSI1が過剰にあると、S細胞はL細胞になります(図3)。

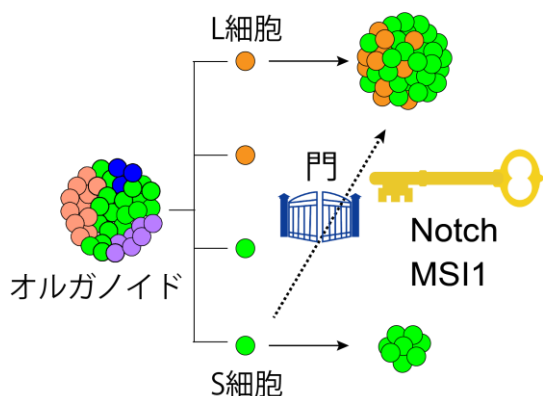


図3

大腸がんオルガノイドは、大きなスフェロイドになる細胞(L細胞、オレンジ色)と小さなスフェロイドになる細胞(S細胞、緑色)で構成されています。L細胞からは自然にL細胞とS細胞ができますが、S細胞からはS細胞しかできません。NotchシグナルやMSI1の活性化によって、S細胞もL細胞を生むようになります。

S細胞由来のスフェロイドはL細胞由来のスフェロイドと比べて薬剤耐性です(図4)。抗がん剤に暴露されたオルガノイドの中では、L細胞は死滅してS細胞が残ります。抗がん剤に暴露されると、それをきっかけとしてS細胞はL細胞を生むようになります。増殖する過程で再びL細胞が生まれることが、抗がん剤の薬剤耐性や再発のメカニズムである可能性があります。

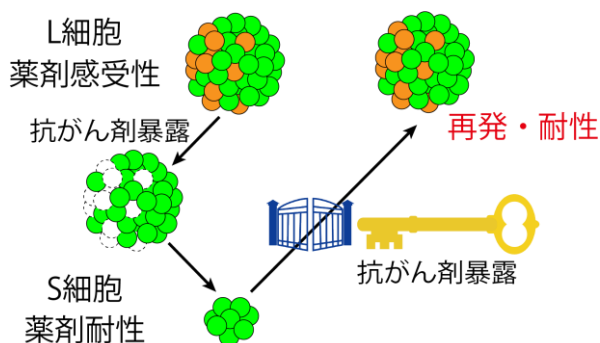


図4

オルガノイドはL細胞とS細胞で構成されています。L細胞は薬剤感受性で抗がん剤に暴露されると死滅しますが、薬剤耐性のS細胞が残ります。抗がん剤に暴露されるとS細胞はL細胞に転換し、増殖して元の構成に戻ります。このことが治療後の再発や薬剤耐性に関与している可能性があります。

3. 波及効果、今後の予定

本研究により純粋なS細胞だけを培養することができるようになったことから、S細胞とL細胞間の移行による薬剤耐性のメカニズムの解析や、S細胞を標的とした治療法の開発により、抗がん剤の治療効果を劇的に改善できる可能性があります。

4. 研究プロジェクトについて

この研究は、AMED 科研費 20cm0106203h0005、JSPS (日英研究協力プログラム、国際特別研究員制度)、内閣府 官民研究開発投資戦略推進プログラム、理研ジュニア研究員制度の支援を受けたものです。

<用語解説>

(※1) がん幹細胞仮説・・・正常組織と同様に、がんにも幹細胞が存在するとする仮説。

(※2) CTOS 法・・・井上らの開発したがん細胞の調製・培養法。がん組織からがん細胞を細胞塊として取り出し、単細胞化することなく培養する。

(※3) オルガノイド・・・組織から取り出した幹細胞を三次元培養して、組織内の細胞の性質をより良く保持させた培養物

(※4) スフェロイド形成能・・・単細胞にされたがん細胞が、スフェロイドに成長することができる能力。幹細胞の一つの指標。

<研究者のコメント>

がんオルガノイドはがんの不均一性やその可塑性を保持しており、今後の創薬で大きな役割を果たすと考えています。一方で、均質で安定した培養系である従来の細胞株を使った研究と違って、不均一性や可塑性は難しい研究テーマです。がんを克服するには、この難題に立ち向かわなければなりません。今回の研究がそういう流れの一端になることを期待しています。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Distinct but interchangeable subpopulations of colorectal cancer cells with different growth fates and drug sensitivity (大腸がん細胞の異なる細胞運命と薬剤感受性をもつ亜集団は、明確に区別でき可塑的に転換する)

著者：Roberto Coppo, Jumpei Kondo, Keita Iida, Mariko Okada, Kunishige Onuma, Yoshihisa Tanaka, Mayumi Kamada, Masayuki Ohue, Kenji Kawada, Kazutaka Obama, Masahiro Inoue

掲載誌：iScience DOI：10.1016/j.isci.2023.105962