

大腸がん転移におけるがん細胞集団の極性転換の役割

小沼邦重、井上正宏

京都大学大学院医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座

集団としてのがん細胞が転移に寄与することが報告されているが、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。我々は独自に開発した大腸がん細胞塊培養物 Cancer Tissue-Originated Spheroid (CTOS) を利用して、がん細胞集団の特性解析を行ってきた。大腸がん CTOS は、細胞外マトリクスの存在下では、スフェロイド内に apical 面で覆われた管腔を持つ状態 (apical-in) になるが、浮遊培養下では、apical 面がスフェロイドの外周を覆う状態 (apical-out) を示し、培養条件を変えると短期間で相互転換する (極性転換)。がん細胞は集団として血管内へ侵入した場合に apical-in から apical-out へ極性状態を転換させると予想されるが、実際に患者大腸がんでもそのような病理像が観察される。本研究では、apical-out の極性状態が転移過程に及ぼす影響を検討した。正常腸管上皮は apical 面から活性酸素を放出し、感染防御に寄与していることが知られている。CTOS (C45) の培養液中では、apical-out の活性酸素量が apical-in と比較して有意に高かった。Micropapillary carcinoma は細胞外マトリクスの存在下にも関わらず apical-out の極性状態を維持する病態であるが、腫瘍内の micropapillary 病変部周囲の間質では、脂質過酸化のマーカである 4-hydroxynonenal が強く発現していた。次に、肝転移における重要な段階である、がん細胞の肝血管内皮細胞への接着能を比較した。蛍光標識したヒト肝血管内皮細胞を単層培養し、蛍光標識した C45 を重層した。播種 3 時間後に非接着細胞を除去し、蛍光を定量することで接着率を算出した結果、apical-in と比較して apical-out の C45 は接着率が有意に増加した。また、接着後に、がん細胞が血管内皮を置換して広がる現象 (クリアランス) を定量したところ、apical-in と比較して apical-out の C45 はクリアランス率が増加した。抗酸化物質の NAC で処理した場合、さらに shRNA により活性酸素種産生酵素の一つである NOX1 の発現量を減少させた場合、これらの現象は抑制された。以上の結果から apical-out の極性状態では、apical 面の外側に放出された活性酸素が血管内皮に作用し、血管内から血管外への浸潤を促進することが示唆された。