

平成 29 年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		生体イメージングによる <i>in vivo</i> がん細胞の動的解析
新規・継続の別		新規・継続
研究代表者	所属	大阪大学大学院医学系研究科
	職名・氏名	教授 石井 優
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	大阪大学大学院医学系研究科
	職名・氏名	助教 菊田 順一
	所属	大阪大学大学院医学系研究科
	職名・氏名	助教 水野 紘樹
	所属	大阪大学大学院医学系研究科
	職名・氏名	助教 数藤 孝雄
	所属	大阪大学大学院医学系研究科
	職名・氏名	特任助教 松井 崇浩
	所属	大阪大学大学院医学系研究科
	職名・氏名	大学院生 上中 麻希
受け入れ教員	職名・氏名	教授 藤田 恭之
研究目的 (300 字程度)		がんの発生および進展はダイナミックである。局所で発生した変異細胞が周囲の正常細胞との「競合」の末に生き延びて、やがては浸潤・転移能を獲得して全身へ広がって行く。本申請者はこれまでに、実験動物を生かしたままの状態、その内部の細胞・組織の動態を可視化する「生体 2 光子励起イメージング」の実験系を駆使して、骨髄・免疫細胞の動態を解析してきたが、最近では同じく「動く」細胞である、がん細胞の浸潤・転移に焦点を当てて研究を行っている。本共同研究では、特にがん細胞（変異細胞）が周囲の正常細胞との競合する過程について、生体イメージングにおいて <i>in vivo</i> の細胞動態を解析する。この目的のために、本研究領域における第一人者である藤田恭之教授との共同研究を行い実験系の確立を行う。
研究内容・成果 (1000 字程度)		本共同研究において、藤田教授が構築したマウス <i>in vivo</i> における腸上皮細胞の変異誘導システムを利用し、申請者が有する生体 2 光子励起イメージング系を活用することで、生体腸管内における単一細胞レベルでのがん化、およびその際の周囲の正常細胞との相互作用について、リアルタイムで可視化して時空間的な解析を行うことで、その細胞現象・分子機構を実体的に明らかにすることを目的とした。特に、<i>in vitro</i> の培養系で見られているような、変異細胞が生じた際に起こる細胞競合の結果としての変異細胞の管腔側への排出が <i>in vivo</i> でも実際に起きうるのかについて、種々の画像解

	析法を用いて詳細な解析を行った。 結果、二光子励起顕微鏡を駆使して、動物個体を生かしたまま生理的な環境を維持しながら、生体腸管組織内の“生きた”細胞動態を可視化する生体イメージング手法を確立した。 さらに確立した生体二光子励起イメージング技術を用いて、藤田恭之教授らによって開発された細胞競合モデルマウス（Villin-CreERT2;CAG-LSL-RasV12-IRES-EGFP）の腸管組織内を観察し、生きた哺乳類の生体組織内において正常上皮細胞と Ras 変異細胞間に生じる細胞競合現象を経時的に可視化することに世界で初めて成功した。 その結果、タモキシフェン 2mg を腹腔内投与 1 日後、腸管上皮に EGFP 陽性の Ras 変異細胞がモザイク状に誘導されたが、細胞競合現象は観察されなかった。タモキシフェン投与 2～3 日後には、細胞競合により Ras 変異細胞が正常上皮層より排除される様子が観察された。Ras 変異細胞の動態を解析した結果、下記の 3 種類に大別することができた。 ① 細胞核が他の正常腸上皮細胞の核と一列に並び、細胞体も絨毛内に留まっていて、細胞競合が始まっていない段階の Ras 変異細胞（Non-extruded cell） ② 細胞核が他の正常腸上皮細胞の核の列から外れていることから、細胞競合現象は始まっているが、細胞体が絨毛内に留まり、まだ管腔に排除されていない Ras 変異細胞（extruding cell） ③ 細胞核および細胞体ともに管腔に存在し、細胞競合により絨毛から管腔に排除された Ras 変異細胞（extruded cell） 一方、Ras 変異が誘導されないコントロールマウス（Villin-CreERT2;CAG-LSL-IRES-EGFP）では、EGFP 陽性細胞は腸上皮層より排除されなかった。 さらに、細胞競合現象をタイムラプスイメージングした結果、変異細胞は細胞の形態を変えながら正常上皮層より排除される様子が観察されたが、正常マウスにおいて腸上皮細胞が上皮層から脱落する様子とは細胞の形態変化が異なることが分かった。 これらの結果から、ショウジョウバエや <i>in vitro</i> の哺乳類上皮培養細胞系で明らかになった細胞競合現象が、哺乳類生体内の <i>in vivo</i> の系でも実際に起こっている現象であることが明らかとなった。
成果	【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと

	【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF入力のこと Kajita M, Sugimura K, Ohoka A, Burden J, Suganuma H, Ikegawa M, Shimada T, Kitamura T, Shindoh M, Ishikawa S, Yamamoto S, Saitoh S, Yako Y, Takahashi R, Okajima T, Kikuta J, Maijima Y, Ishii M, Tada M, Fujita Y. Filamin acts as a key regulator in epithelial defence against transformed cells. Nat Commun, 5:4428, 2014 Kon S, Ishibashi K, Katoh H, Kitamoto S, Shirai T, Tanaka S, Kajita M, Ishikawa S, Yamauchi H, Yako Y, Kamasaki T, Matsumoto T, Watanabe H, Egami R, Sasaki A, Nishikawa A, Kameda I, Maruyama T, Narumi R, Morita T, Sasaki Y, Enoki R, Honma S, Imamura H, Oshima M, Soga T, Miyazaki JI, Duchon MR, Nam JM, Onodera Y, Yoshioka S, Kikuta J, Ishii M, Imajo M, Nishida E, Fujioka Y, Ohba Y, Sato T, Fujita Y. Cell competition with normal epithelial cells promotes apical extrusion of transformed cells through metabolic changes. Nat Cell Biol. 2017 May;19(5):530-541. doi: 10.1038/ncb3509. 【新聞報道】
--	--