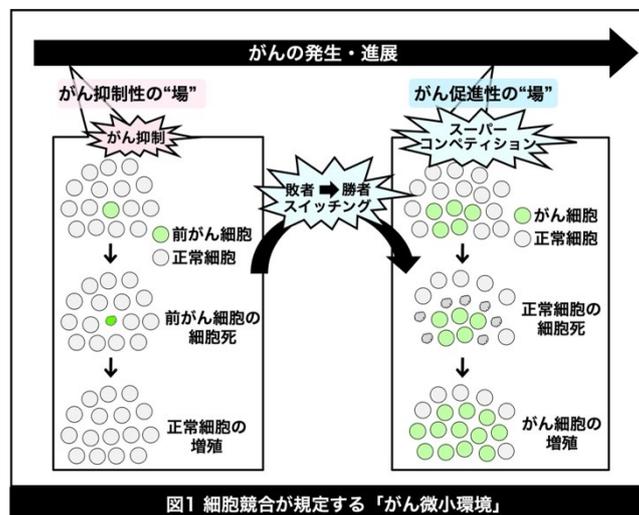


競合が制御するがん微小環境とその分子基盤の解明

名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻遺伝学分野
大澤 志津江

がんの発生や進展は、細胞ががん原性の突然変異を多段階的に蓄積することで、細胞自律的に引き起こされると考えられてきた。ところが近年になり、突然変異を獲得した前がん細胞が組織内で増殖・拡大する過程で、周辺細胞との間で細胞間相互作用を介した“細胞非自律的な”作用が生じ、これががんの発生・進展に対して正にも負にも働くことが分かってきた。そして、このようながん原性細胞と周辺細胞との間の相互作用の“場”「がん微小環境」の性質を規定する因子として、細胞競合が注目されつつある。

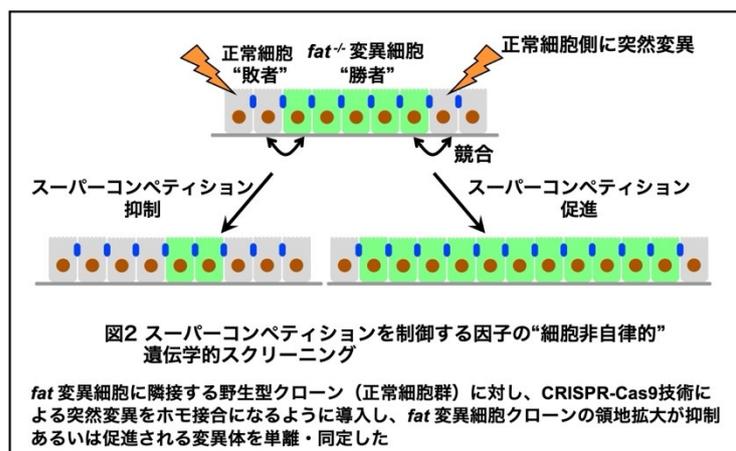
細胞競合とは、組織中の隣り合う細胞間で組織の適応度を競合する現象で、この競合の“勝者”が“敗者”を細胞死により排除し、その場を占有する (Morata & Ripoll, *Dev. Biol.*, 1975)。重要なことに、単独で集団を形成すれば生き延びられる細胞でも、より適応度の高い細胞に組織中で出会うと積極的に排除される。また、周辺細胞との相対的な関係に依存して、ある環境では“敗者”となる細胞が、別の環境では“勝者”となり得る。すなわち細胞競合は、ある細胞の運命がその近接細胞との質の差によって決定されるという新しい生命原理の存在を示唆していると考えられた。さらにもう一つ注目すべきことに、最近の研究により、細胞競合は、組織に生じた前がん細胞を組織から排除する現象や、がん細胞が周辺細胞を駆逐しながら組織内での領地を拡大していく“スーパーコンペティション”、さらには、通常は組織から排除される前がん細胞が、細胞集団環境に応答して排除を免れ、腫瘍を形成する“スイッチング”現象に関わることが示され、がん制御を担う重要なシステムであると推察されている (図1)。しかしながら、その分子実体はいまだ不明な点が多い。本研究では、ショウジョウバエ上皮をモデルとして、スーパーコンペティション機構の解析を生体レベルで行い、細胞競合が「がん微小環境」の性質を規定・制御する遺伝的基盤の理解を目指した。



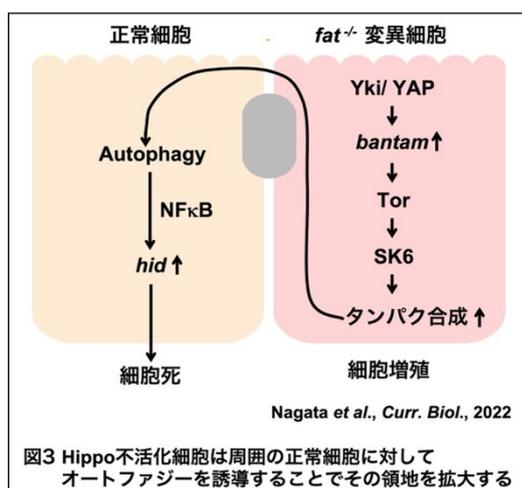
スーパーコンペティションの分子機構を明らかにするため、進化的に保存されたがん抑制性経路である Hippo 経路のシグナル強度差に依存して引き起こされる細胞競合をモデルとした2種類の遺伝学的スクリーニング、すなわち、「がん細胞に対する周辺細胞の“細胞非自律的”作用をターゲットとした“細胞非自律的”遺伝学的スクリーニング」および「スーパーコンペティションを成立させる“場(がん微小環境)”をターゲットとした遺伝学的スクリーニング」を実施した。

(1) スーパーコンペティションを制御する遺伝子群を同定する“細胞非自律的”遺伝学的スクリーニング Hippo 経路シグナルが不活化した「非典型的カドヘリン *fat* 変異細胞」群をショウジョウバエ上皮に誘導すると、これら *fat* 変異細胞が正常細胞を競合的に駆逐してその領地を拡大する“スーパーコンペティション”が引き起こされる。この系において、*fat* 変異細胞に隣接する野生型クローン(正常細胞群)に対し、CRISPR-Cas9 技術による突然変異をホモ接合になるように導入し、*fat* 変異細胞クローンの領地拡大が抑制あるいは促

進される変異体を単離・同定する遺伝学的スクリーニング系を確立することに成功した（国立遺伝学研究所・斎藤 都暁博士および近藤 周博士／京都大学大学院生命科学研究所・井垣 達史博士との共同研究）（図2）。



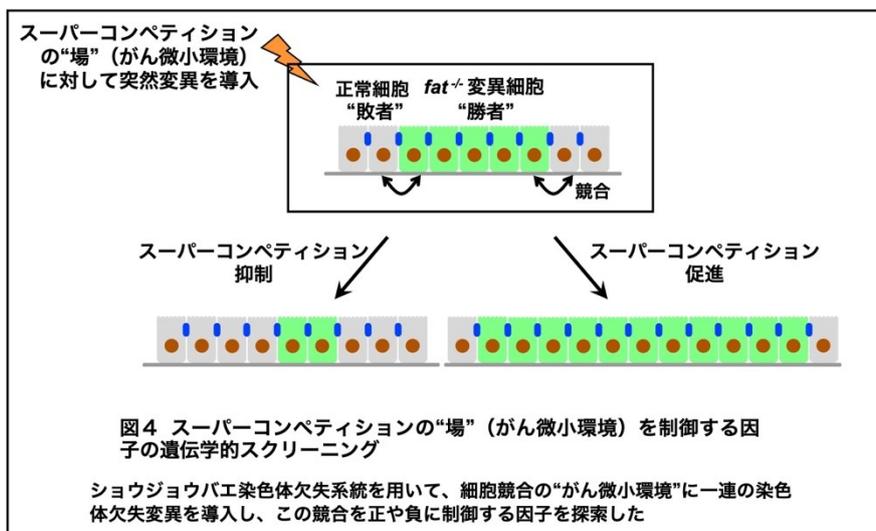
これまでに、CRISPR-Cas9 技術により変異を導入した約 850 遺伝子の突然変異系統についてスクリーニングを行い、*fat* 変異細胞によるスーパーコンペティションを抑制する系統を 9 系統、促進する系統を 2 系統単離することに成功した。興味深いことに、スーパーコンペティションを細胞非自律的に抑制した系統のうち、4 系統 (*Atg18b*^{#352}, *Atg4a*^{#2086}, *Vha68-3*^{#35}, *Vha100-5*^{#725}) の責任遺伝子がオートファジー制御遺伝子であることが分かった。これまでに、タンパク合成能力が低下した細胞（敗者）が周囲の正常細胞（勝者）により引き起こされる細胞死において、オートファジーが重要な役割を果たすことが報告されており (Nagata *et al.*, *Dev. Cell*, 2019)、スーパーコンペティション現象においても同様に、オートファジーが関与される可能性が考えられた。遺伝学的解析を行なった結果、① *fat* 変異細胞において、転写共役因子 Yokie のターゲットである microRNA *bantam* が誘導され、TOR シグナルを介したタンパク合成能の上昇が引き起こされること、および、②これが、隣接した正常細胞に対してオートファジーを誘導し、細胞死遺伝子 *hid* を介した細胞死を誘発することが明らかとなった (Nagata, Akai, Kondo, Saito, Ohsawa, Igaki, “Yorkie drives supercompetition by non-autonomous induction of autophagy via *bantam* microRNA in *Drosophila*”, *Curr. Biol.*, 2022)。



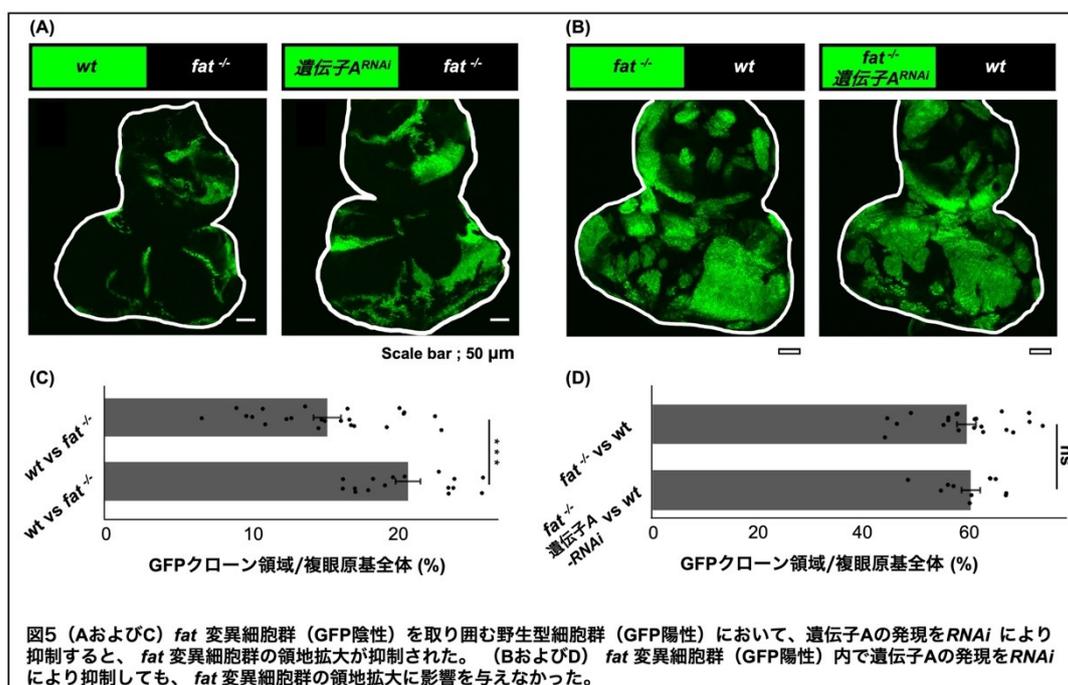
これと並行して、スーパーコンペティションを促進する系統として単離された 1 系統についても解析を行っている。興味深いことに、解析を行う過程で、勝者による力学的な作用がその領地拡大に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。現在、スーパーコンペティションを促進する表現型を抑制する遺伝子群を単離するドミナントモディファイヤースクリーニングを、一連のショウジョウバエ染色体欠失系統を用いて実施しているところである。今後は、遺伝学的スクリーニングを継続すると同時に、共同研究を介して力学モデルの構築を行う予定である。

(2) スーパーコンペティションの“場”（がん微小環境）を成立させる因子の遺伝学的スクリーニング
本遺伝学的スクリーニングでは、ショウジョウバエ全ゲノムの 80%以上をカバーする染色体欠失系統を

用いて、細胞競合の“がん微小環境”に一連の染色体欠失変異を導入し、この競合を正や負に制御する因子を探索する。具体的には、*fat* 変異細胞クローン (GFP および *w+* で標識) を成虫原基にモザイク状に誘導した上で、成虫原基全体に染色体欠失変異をヘテロに導入し、細胞競合によるスーパーコンペティションに異常をきたす変異系統をスクリーニングした (図 4)。



これまでに、ショウジョウバエ第3染色体の染色体欠失系統についてスクリーニングを行い、*fat* 変異細胞によるスーパーコンペティションを抑制する系統を3系統単離した。これら3系統についてそれぞれ、遺伝学的解析を進めていく過程で、1系統において欠失している領域内にコードされる遺伝子 A が責任遺伝子であること、および、*fat* 変異細胞を取り囲む野生型細胞において重要な役割を果たしていることが分かった (図 5)。遺伝子 A は機能未知の遺伝子である。今後、遺伝学的解析や生化学的解析を行うことで、スーパーコンペティションにおける遺伝子 A の機能とその分子基盤を明らかにしていく。さらに、進化的保存性やがん発生・進展における生理的役割を明らかにしていくことで、細胞競合を介して構築されるがん微小環境制御の理解に迫る。



成果論文

Nagata R, Akai N, Kondo S, Saito K, **Ohsawa S**, Igaki T; Yorkie drives supercompetition by non-autonomous induction of autophagy via *bantam* microRNA in *Drosophila*. *Curr. Biol.*, 32, 1064-1076, 2022