

癌細胞の運命を決める細胞形態のスイッチングのしくみ

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部
分子病態学分野
坂根 亜由子

1. はじめに 目的 背景

癌細胞が転移・浸潤する過程においては細胞の形態変化が幾度も起こる。例えば、癌化した上皮細胞はEMTを起こして間葉系細胞に姿を変える。その後、様々な細胞外環境に応じて間葉系細胞型からアメーボイド型（MAT, Mesenchymal Amoeboid Transition）、または、アメーボイド型から間葉系細胞型（AMT, Amoeboid Mesenchymal Transition）といった形質転換が起こり、細胞形態の変化に伴った著しい運動能の亢進が認められる。さらに、最近では、癌細胞同士が接着を維持することで集団を形成し、集団として浸潤していくこと（集団的浸潤）も知られているが、その集団内でも細胞形態・機能のスイッチングが起こっていることが明らかになってきている。このような単独および集団内での癌細胞の形態や運動のモード変換は、癌細胞が様々な難関を突破して細胞外マトリックス内を動いていく際に威力を発揮し、その細胞がどの程度細胞外環境に打ち勝ってどこまで辿りつけるのか、といった癌細胞としての運命を決定しているとも言えるが、その制御機構の解明はRhoファミリーを中心としたアクチン細胞骨格の時空間制御が重要な役割を果たしているということに留まり、詳細は未だ明らかになっていない。したがって、その分子基盤を明らかにすることは癌の転移・浸潤を理解して克服する上で非常に重要な課題であると考えられる。

研究代表者の所属する研究グループは、これまで代表的な小胞輸送の制御系として知られるRabファミリー低分子量G蛋白質のメンバーであるRab13の標的蛋白質としてJRABを見出すとともに、Rab13-JRAB系が上皮細胞において接着分子の細胞膜への輸送を制御することにより、細胞間接着の形成に関与することを明らかにしている。最近になって、研究代表者は、このJRABがアクチン線維に直接的に、あるいはアクチン結合蛋白質を介して間接的に結合してアクチン細胞骨格の再編成を制御していることを見出している。また、JRABは分子内結合によって構造的にclosed formになっているが、活性型のRab13と結合することで分子内結合が解除され、open formになることを生化学的に明らかにしている。さらに、最近では、研究代表者は恒常的にclosed formまたはopen formをとる変異体を作製し、それらの変異体を発現した細胞を用いて詳細な細胞生物学的解析を行い、この構造変化がアクチン細胞骨格の再編成の時空間制御にリンクすることによって、上皮細胞においてだけでなく、一部の癌細胞においてもダイナミックな細胞形態変化を生み出すことを見出している。したがって、JRABの構造変化が癌細胞におけるモード変換を制御している可能性が十分に考えられる。そこで、本研究では、Rab13-JRAB系が制御する癌細胞における形態・運動のモード変換の分子基盤の解明に向けて研究を進めた。

2. 方法

本研究では、癌細胞の形態・運動のモード変換制御の本体としてRab13-JRAB系を提示し、その制

御機構に注目して解析を進めた。具体的には、まず、(1) Rab13-JRAB複合体の構造解析を行い、これまで生化学的にしか捉えられていないRab13との結合に依存したJRABの構造変化を証明すべく、生化学的解析とバイオインフォマティクスを組み合わせたアプローチで解析を行った。次に、(2) 癌細胞集団における形態・運動のモード変換におけるJRABの構造変化の重要性について証明するため、JRABのFRETプローブを作製し、細胞集団の運動時にJRABが集団内での細胞の位置や細胞内での局在に応じた構造変化を起こしているか否かをライブイメージングで検討した。さらに、(3) JRABの構造変異体を発現させた細胞形態および運動をライブイメージングで捉え、各々の特徴をコンピュータサイエンスの手法を駆使して抽出・定量することを試みた。一方、(4) 単独癌細胞での形態・運動のモード変換におけるJRABの役割を明らかにするため、ヒトの乳癌細胞株であるMDA-MB 231細胞にJRABの構造変異体を発現させ、それらをコラーゲンゲル状に播いて各々が示す細胞形態を調べた。

3. 結果 研究成果

まず、バイオインフォマティクスの手法と生化学的解析を融合してRab13-JRAB複合体の構造モデリングを行った。現在、その情報に基づいてJRABの部分的なリコンビナント蛋白質の結晶化解析によりRab13を介したJRABの構造変化の実体を証明しつつある。次に、レトロウイルス発現系を用いてJRABのFRETプローブを恒常的に発現している上皮細胞株を樹立し、現在、集団的細胞運動時にJRABが集団内での細胞の位置や細胞内での局在に応じた構造変化を起こしているか否かをライブイメージングで検討しており、すでに予備的解析結果は得ている。研究代表者は、これまでにJRABの構造変異体を発現させた上皮細胞の集団的細胞運動において各構造変異体に特徴的なライブイメージング像を見出している。今回、理化学研究所の横田秀夫先生のグループとともにそれらのライブイメージング像をオプティカルフローおよびVolume renderingといった手法を用いて分析し、各々の構造変異体が示す野生型とは異なった特徴を抽出し、定量することに成功した。それらの結果から、野生型の細胞集団は2つの変異体の特徴を融合した振る舞いをしていることも明らかにできた。さらに、ヒトの乳癌細胞株であるMDA-MB 231細胞にJRABの構造変異体をレンチウイルスによって発現させ、それらをコラーゲンゲル状に播いて各種の単独細胞が示す細胞形態を調べたところ、そこでもJRABの構造変化が細胞形態のダイナミックな変化に連動していることが明らかになった。

4. 考察 まとめ

本研究では、生化学とバイオインフォマティクス、ライブイメージングとコンピュータサイエンスを組み合わせた多彩なアプローチ法によってJRABの構造変化とその癌細胞形態のスイッチングにおける重要性を明らかにした。また、集団や単独での細胞運動で起こる細胞形態のスイッチングには共通の制御機構が存在し、Rab13との結合に依存したJRABの構造変化がそのスイッチの本体である可能性が示唆された。今後は、このJRABの構造変化の個体レベルでの重要性を、例えば、動物モデルを用いた癌の浸潤・転移実験などで明らかにしたい。

5. 発表論文、参考文献

なし(論文投稿準備中)