

Tumor-microvessel on-a-chip による がん細胞クラスターの血管侵入現象の解析

近藤誠¹, 池田行徳¹, 末弘淳一², 大島浩子³,
高橋和樹^{1,4}, 渡部徹郎⁴, 大島正伸³, 松永行子¹

1. 東京大学 生産技術研究所

2. 杏林大学 医学部

3. 金沢大学 がん進展制御研究所

4. 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

【目的】血中循環腫瘍細胞（CTC: Circulating tumor cell）クラスターは、高悪性度腫瘍患者の血液サンプルからしばしば検出され、腫瘍の転移や予後不良と関連している。しかしながら、癌細胞クラスターが原発性腫瘍から血管の壁を越えて放出されるメカニズムは不明である。本研究では、遺伝的背景の異なる腫瘍オルガノイドを微小血管の周囲に配置することにより、腫瘍の浸潤を可視化する三次元 *in vitro* 培養系を開発し、その血管浸潤の様子の観察と、そのメカニズムを解析した。

【方法】転移性の異なるマウス腸腫瘍由来細胞を用いた。 *Apc*^{Δ716} (A), *Kras*^{G12D} (K), *Tgfr2*^{-/-} (T), *Trp53*^{R270H} (P) の変異の組み合わせによる遺伝子型から、AP と AKTP の細胞を用いた。三次元腫瘍微小血管モデルは、ポリジメチルシロキサン (PDMS) のチップ (25 mm × 25 mm × 5 mm : 幅×長さ×高さ) を使用し、中和コラーゲン溶液 (2.4 mg/mL) と混合した腫瘍オルガノイドをデバイスの中央チャンバーに加え、直径 200 μm の針をチップに挿入し、37°C で 45 分間インキュベートしゲルを固めた後に針を引き抜くことで、コラーゲンゲルに管腔構造を作製した。ヒト臍帯静脈内皮細胞を管腔内に播種し、培養の継続は EGM-2 培地でおこなった。形態観察のため、Ulex Europaeus Agglutinin-I (UEA I) レクチンによる内皮の可視化、F-actin の phalloidin による染色、SM22α 染色をおこなった。さらに、トランスフォーミング増殖因子 β (TGF-β) 及びアクチビン遺伝子群の発現解析及び、TGF-β とアクチビンシグナルの阻害実験をおこなった。

【結果と考察】AKTP 遺伝子型のがんオルガノイドは、AP に比べ、高い浸潤能を持つこと、三次元微小血管をハイジャックすることを、タイムラプス観察で確認した。また、この浸潤能は、三次元微小血管との共培養により有意に増悪し、著しい血管側の形態変化も観察され、内皮間葉転換 (EndoMT: Endothelial-mesenchymal transition) マーカーの SM22α が高発現していた。さらに、微小血管における EndoMT を伴う腫瘍細胞の浸潤には、腫瘍細胞における TGF-β の発現と、それに続く内皮におけるアクチビンの発現誘導が重要であることが示された。今回我々が開発した Tumor-microvessel on-a-chip システムにより、微小血管周囲のコラーゲンゲル内でのがんクラスターの集団

Summary

移動、血管共役、CTC クラスターの放出など、クラスター単位での腫瘍浸潤を可視化することができた。本システムは、CTC クラスターを標的とした腫瘍転移の治療戦略の開発に有用であると考えられる。