

# トランススケールスコープ AMATERAS によるがん希少融合現象の動態解析

イッザティ ラフィダー (薬学研究科)

市村 垂生 (先導的学際研究機構)

熊ノ郷 淳 (医学系研究科)

永井 健治 (産業科学研究所)

## 1 研究の背景

がんは日本人における主要な死因である。特に転移は治療を困難にし、致死率を著しく高める要因となっている。そのため、がん転移の機構解明およびそれに基づく予防法の開発は喫緊の課題である。

近年、「融合がん細胞」ががん転移と密接に関係する細胞として注目されている。<sup>[1]</sup> これは、腫瘍微小環境において、マクロファージなどの免疫細胞ががん細胞と融合することで生じるとされている。融合によりがん細胞は免疫細胞の性質を獲得し、生体の持つがん排除機構を回避するとともに、高い移動能を得て血中へ浸潤し、転移の契機となると考えられている。

従来の融合がん細胞の研究では、フローサイトメトリー等を用いて腫瘍内または血中の融合細胞を抽出・解析する方法が主であった。これにより融合がん細胞の悪性度や転移能に関する知見は得られているものの、融合そのものの発生機構や過程については未解明な点が多い。さらに、融合現象は極めて稀に生じるため、従来の手法ではその現象をリアルタイムに観察することが難しく、従って動態を解析することが困難であった。

## 2 研究の目的

本研究では、がん細胞とマクロファージとの細胞融合現象を *in vitro* で再現し、大規模イメージング装置であるトランススケールスコープ AMATERAS での観察と組み合わせることで、その稀な融合過程を動態解析可能なプラットフォームの構築を目的とした。

## 3 研究の方法

### 3.1 細胞融合再現のための共培養系の構築

がん細胞とマクロファージの共培養系を構築し、細胞融合の再現を試みた。がん細胞としては、ヒト乳がん細胞株 MCF-7 および前立腺がん細胞株 C4-2 を使用した。マクロファージは、ヒト単球細胞株 THP-1 から分化誘導して得た。

細胞識別のために、蛍光色素あるいは蛍光タンパク質によるラベリングを行った。具体的には、MCF-7 と THP-1 をそれぞれ eGFP (緑色蛍光) および mCherry (赤色蛍光) を恒常発現する細胞株として構築した。また、C4-2 使用時には、細胞質染色試薬 CMFDA (緑色蛍光) を用いた。細胞融合が生じた場合、両蛍光を併せ持つ細胞が観察されることが期待される。

### 3.2 AMATERAS を用いた融合過程の大規模動態解析

蛍光ラベル済みのがん細胞とマクロファージを共培養し、トランススケールスコープ AMATERAS<sup>[2, 3]</sup> を用いてタイムラプス観察を実施した。AMATERAS は 10.1 × 14.6 mm の超広視野を有し、数万~数十万細胞の同時観察が可能な大規模イメージング装置である。ここでは、10 分間隔で最大 4 日間の蛍

光タイムラプス観察を行い、細胞融合やマクロファージによる貪食など、がん細胞との相互作用の動態を解析した。

## 4 研究成果

まず、MCF-7 とマクロファージを 2:1 の細胞比で共培養し、AMATERAS による 2 日間のタイムラプス観察を実施した。その結果、5 万細胞以上を対象に蛍光パターンに基づく動態解析が可能となった。

解析の結果、赤色蛍光を持つマクロファージの内部に、緑色の円形構造を持つ細胞がごく稀に検出された (図 1 A)。これは、マクロファージによるがん細胞の貪食により生じた細胞と考えられる。また、これら細胞内部の eGFP 蛍光は時間とともに顕著に減衰した。これは、ファゴソーム内の酸性環境による eGFP の消光によると示唆される。このような貪食パターンは、約 50,000 細胞中 2 細胞のみで観察され、マクロファージによるがん細胞貪食が極めて稀な現象であることが明らかとなった。一方、MCF-7 を用いた系では融合様の蛍光パターンを示す細胞は検出されなかった。

次に、C4-2 細胞とマクロファージを 2:1 で共培養し、AMATERAS による 4 日間のタイムラプス観察を行った。この系でも貪食様の蛍光パターンを持つ細胞が検出され (図 1 B)、その頻度は MCF-7 系に比べて著しく高く、約 10,000 細胞中 20 細胞程度の割合で観察された。C4-2 は、マクロファージによる貪食を抑制する CD47 などの “Don't eat me” シグナルの発現が低いことが報告されており、<sup>[4]</sup> この結果と矛盾しない。

さらに、この共培養条件において、融合様の 2 色蛍光保持細胞が 1 細胞検出された。タイムラプス画像を遡って解析したところ、当該細胞はマクロファージとがん細胞の融合によって生じたことが確認された (図 2)。興味深いことに、この融合は、両細胞が細い突起を介して接触している状態で生じており (図 2 黄色矢頭)、フィロポディア様の構造の先端で融合が起きた可能性が示唆された。これはイメージングを基にした動態解析によってのみ可視化が可能な重要な知見である。

以上の結果から、本研究は、希少な細胞融合現象の動態を解析可能なプラットフォームの構築に成功したといえる。また、融合現象のみならず、マクロファージによるがん細胞の貪食現象の解析にも応用可能であり、がん細胞-免疫細胞間相互作用を多面的に解析可能な有効な手法となり得る。

今後は、取得される大規模イメージングデータの解析効率を高めるため、機械学習を活用した画像解析手法の導入を進め、融合現象の機構解明にさらに貢献することを目指す。

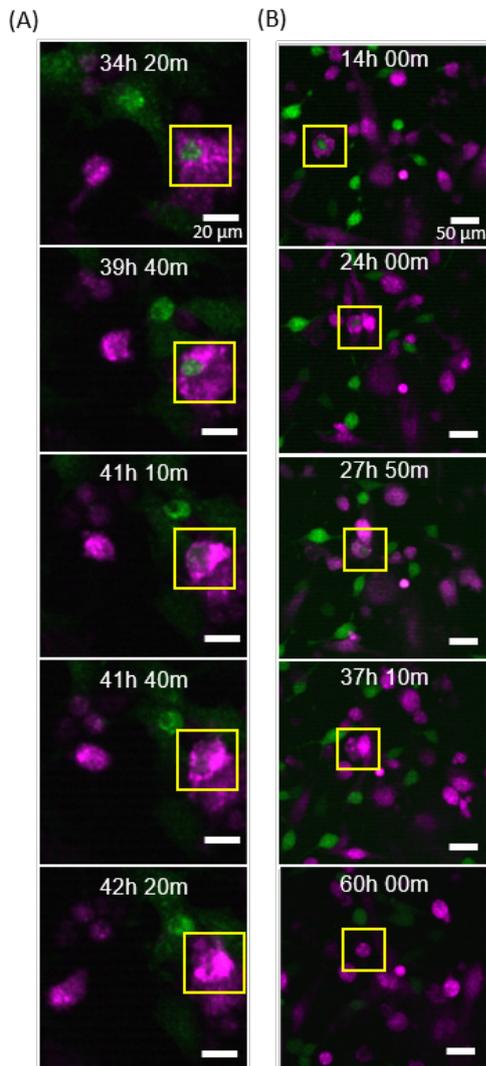


図 1: 稀に観察されたマクロファージによるがん細胞の貪食

(A) MCF-7 細胞 (緑) とマクロファージ (マゼンタ) の共培養中に観察された貪食様の蛍光パターン (黄色四角)。(B) C4-2 細胞 (緑) とマクロファージ (マゼンタ) の共培養中に観察された貪食様の蛍光パターン (黄色四角)。

#### 引用文献

- [1] Gast, Charles E., et al. "Cell fusion potentiates tumor heterogeneity and reveals circulating hybrid cells that correlate with stage and survival." *Science advances* 4.9 (2018): eaat7828.
- [2] Ichimura, Taro, et al. "Exploring rare cellular activity in more than one million cells by a transscale scope." *Scientific Reports* 11.1 (2021): 16539.
- [3] Ichimura, Taro, et al. "Volumetric trans-scale imaging of massive quantity of heterogeneous cell populations in centimeter-wide tissue and embryo." *Elife* 13 (2025): RP93633.

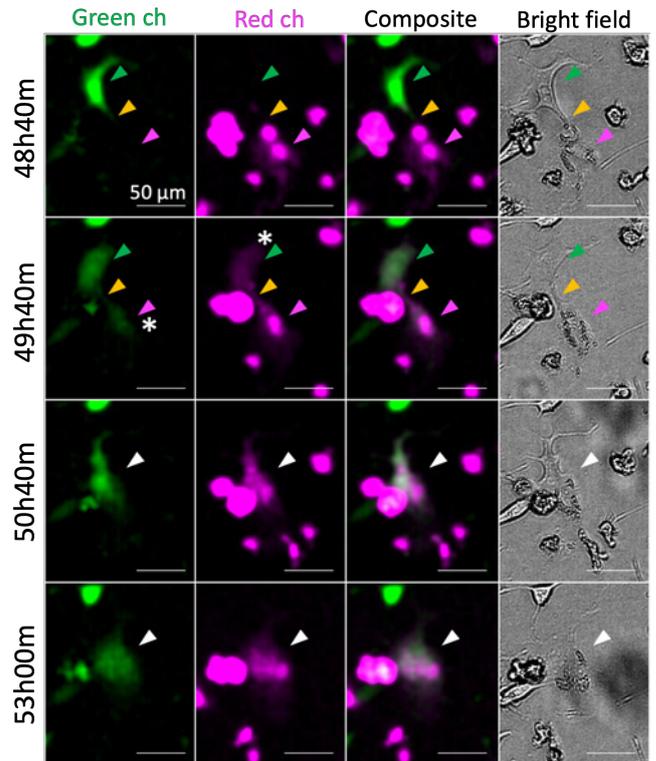


図 2: フィロポディア様突起を介して生じた稀な細胞融合

C4-2 細胞 (緑矢頭) とマクロファージ (マゼンタ矢頭) の細胞融合過程。フィロポディア様の突起 (黄色矢頭) のみを介して接触している状態で、細胞質中の蛍光たんぱく質の混合が観察された (アスタリスク)。その後、両細胞は引き寄せ合い、融合が完了し、単一の融合細胞として振舞った (白矢頭)。T=48h40m: 融合前。T=49h40m: 融合直後。T=50h40m, 53h00m: 融合完了後。

- [4] Chou, Chih-Wei, et al. "Phagocytosis-initiated tumor hybrid cells acquire a c-Myc-mediated quasi-polarization state for immunoevasion and distant dissemination." *Nature communications* 14.1 (2023): 6569.