

48 ヒト肢芽間葉系細胞を用いた腫瘍モデルの構築	山田 大祐
---------------------------------	--------------

【目的】 マウス肉腫モデルを用いた先行研究により、肢芽間葉系細胞系譜の細胞が肉腫の起源となることが示されているが、ヒト肢芽間葉系細胞を用いた肉腫モデルに関してはこれまで樹立されていなかった。そこで本研究では、ヒト肉腫の発症ならびに悪性化機構の解明を行うために、ヒト多能性幹細胞から誘導した拡大培養が可能な肢芽間葉系細胞 (Expandable limb bud-like mesenchymal cells : ExpLBM) を用いた肉腫モデルの構築を行った。

【方法】 CRISPR-Cas9 の系を用いることで、*TP53* の機能欠損を有するヒト iPS 細胞株 414C2 (414C2 *TP53* 欠損株) を樹立した。次に、ドキシサイクリン誘導的に 3×FLAG-EWS-FLI1 の発現を可能にする piggyBAC ベクターを作製し、エレクトロポレーションにて 414C2 (野生型) 及び 414C2 *TP53* 欠損株に導入した。これらの細胞株から ExpLBM を誘導した後、浮遊培養条件下にて軟骨分化誘導を行うことでヒト肢芽間葉系細胞由来軟骨オルガノイドを作製し、NOD-SCID マウスの皮下への移植を行った。ドキシサイクリン投与を開始してから 3 ヶ月後に移植組織を回収し、組織学的解析を行った。

【結果】 ExpLBM への分化誘導後、細胞をドキソルビシン処理した結果、野生型では *TP53* の標的遺伝子である P21 の発現誘導が確認されたが、*TP53* 欠損株では P21 の発現誘導は生じなかった。ドキシサイクリン処理によって、3×FLAG-EWS-FLI1 の発現誘導が確認された ExpLBM を用いて、ドキシサイクリン非存在下で軟骨分化誘導を行ったところ、野生型と *TP53* 欠損の両株で軟骨オルガノイドの形成が確認された。同オルガノイドを皮下移植した NOD-SCID マウスにドキシサイクリンを 3 ヶ月飲水投与した結果、*TP53* 欠損株でユーイング肉腫マーカー (CD99、NKX-2.2) 陽性の腫瘍が形成された。

ヒト肢芽間葉系細胞由来ユーイング肉腫モデルの構築

