

【目的】 乳がんは内分泌療法や分子標的治療等の標準治療が確立され、治療成績は向上しているものの、一部の患者で認められる再発および転移性乳がんについては未だに難治性である。これらの原因には薬剤抵抗性を示す「がん幹細胞」の存在が着目されており、治療抵抗性や晩期再発に関与する可能性が報告されている。しかし、がん幹細胞はがん組織内に極めて僅かしか存在しないため、性状解析のための必要細胞数の確保が困難であり、実際のがん患者組織内に存在するがん幹細胞の生物学的特性や病的意義については十分に解明されていない。本研究では、乳がん患者検体内に潜むがん幹細胞様集団の性質解析および治療標的候補分子の同定を目的とした。

【方法】 我々が以前に開発したハイドロゲル (poly- (sodium p-styrene sulfonate) (pNaSS)) によるがん幹細胞誘導法を用いて、乳がん患者検体から樹立したオルガノイド 6 例を pNaSS ゲルおよびオルガノイド条件下で培養した。Bulk RNA-seq 解析により、pNaSS ゲル培養細胞にて発現上昇した遺伝子群を用いて、従来報告されているがん幹細胞関連分子や脱分化に関与する遺伝子セットの変動について解析した。また、患者検体由来オルガノイド 1 例を用いたシングルセル RNA-seq 解析にて pNaSS ゲル上での経時的な遺伝子発現変動をオルガノイド培養条件と比較し、特異的な変動を示す細胞集団の遺伝子群の特徴をエンリッチメント解析により検討した。

【結果】 pNaSS ゲル上で培養した乳がん患者検体由来オルガノイドでは、薬剤代謝関連分子かつがん幹細胞との関連が報告されている *ALDH1A3* や *CYPIA1* 等の遺伝子発現が亢進し、乳腺前駆細胞や薬剤代謝に関与する遺伝子セットが共通して検出される一方、シグナル伝達関連遺伝子セットの変動は患者検体間で異なっていた。シングルセル RNA-seq 解析より、pNaSS ゲルおよびオルガノイド条件下で培養した細胞集団は異なる分布を示した。pNaSS ゲル培養細胞クラスターの中でも、特に *CYPIA1* を発現する集団においては乳腺前駆細胞や薬剤代謝に関与する遺伝子セットが検出される傾向にあった。以上より、乳がん患者検体より pNaSS ゲルで誘導した幹細胞様集団は患者検体間で多様なシグナル伝達系を利用する一方で *CYPIA1* の発現は共通しており、*CYPIA1* 発現細胞集団が乳がん幹細胞特異的であることが示唆された。

pNaSS ゲル培養乳がん細胞内の特異的な集団における *CYPIA1* 発現および遺伝子セット

