

|                                     |             |
|-------------------------------------|-------------|
| <b>24 ヒト癌オルガノイドを用いた化学療法耐性癌幹細胞同定</b> | <b>佐藤 卓</b> |
|-------------------------------------|-------------|

**【目的】** 化学療法剤を用いた癌の臨床治療では、化学療法剤耐性のわずかな癌細胞が微小残存病変として生き残り、これらが原因となって癌が再発することが大きな課題である。したがって、この残存癌細胞が生じる分子基盤を解明し、それらを駆逐する手法を確立することができれば、多くの癌患者の救命に繋がる。化学療法剤の致死的ストレス下において癌細胞が生き延びる現象は「パーシスタンス」と呼ばれる。同現象は、化学療法剤に晒された癌細胞のうちのごく一部が偶発的、かつ一過的に抗癌剤耐性の性質を獲得する現象と理解されているが、現時点では、化学療法剤によって誘導されるパーシスタンスの分子基盤は不明である。最近、腫瘍内、さらに患者間の癌の不均一性を *in vitro* に再現しうる新たな非臨床ヒト癌モデルとして、「患者由来癌オルガノイド」の有用性が多くの癌種で示されている。我々もこれまでに、独自に確立した手法を用い、舌癌の患者腫瘍組織に由来する癌オルガノイド株を樹立している(論文投稿中)。興味深いことに、樹立した患者ごとの癌オルガノイド株は、化学療法剤に対する感受性が極めて多様であり、化学療法剤存在下で生き延びる癌細胞を、特に多く含むオルガノイド株を複数得ている。本研究では、パーシスタンス誘導の分子基盤解明を目指し、化学療法剤抵抗性のヒト扁平上皮癌オルガノイドモデルの解析から、パーシスタンスを担う細胞集団を同定する。

**【方法】** 本研究では、まず多様なヒト細胞表面抗原に対する抗体パネルを用い、化学療法剤抵抗性癌オルガノイド株に発現する細胞表面抗原、およびそれらの中で、化学療法剤処理後に生存するパーシスターに特徴的に濃縮される細胞表面抗原を探索した。一方、1細胞マルチオーム解析を実施し、癌オルガノイド中の化学療法剤抵抗性細胞集団の同定を試みた。

**【結果】** すでに取得済みの癌オルガノイドの遺伝子発現データを参考に、実際にオルガノイドで発現されている可能性の高い細胞表面抗原を抗体パネルの中から選択した。それらの抗体を用い、化学療法剤耐性癌オルガノイドを構成する癌細胞のフローサイトメーター解析を行った。その結果、同オルガノイドの癌細胞に定常的に発現される分子および、それらの中で、化学療法剤処理後の細胞で発現亢進する複数の分子を見出した。しかしながら、いずれの抗体の染色でもオルガノイドを構成する癌細胞はほぼ均一に染色されており、特定の細胞集団を分画化できるような染色パターンは得られなかった。一方、単一細胞マルチオーム解析を実施し、パーシスタンスに関わることが予想される癌幹細胞集団の同定を試みたが、既知の癌幹細胞マーカー遺伝子を発現する特定の細胞クラスターを見いだすことはできなかった。現在、タイムラプスイメージングも合わせて用いることで、パーシスターに特徴的な「細胞表面分子の経時的発現変化」から同細胞を特定可能か検討中である。

患者由来癌オルガノイドを用いる化学療法剤パーシスター癌幹細胞の同定

