

**【目的】** がんの根絶が難しい原因の1つとして、がん幹細胞の存在が挙げられる。がん幹細胞は、それ自体の数は少なく増殖速度も遅いが、抗がん剤や放射線などの治療に対して抵抗性が高く、転移や治療後の再発の原因になると考えられている。そのためがん幹細胞に特異的な因子を解明し、それを標的としたがんの根本的な治療法の開発が求められている。

本研究課題で着目する Glycoprotein NMB (GPNMB) は、上皮間葉転換 (EMT) を誘導し、乳がんの発生・進展に寄与することを見出している。EMT は、がん細胞の浸潤転移に加え、がん幹細胞様特性の誘導にも関与すると報告されている。よって、EMT 誘導に関与する GPNMB とがん幹細胞性誘導との関連について検討することで、がん幹細胞についての理解を深め、がん幹細胞を特異的に標的とする治療法の開発につなげることができないのではないかと考えた。

**【方法】** がん幹細胞を濃縮する方法として、3次元スフェア培養法を用い、通常の2次元単層培養法で培養した細胞、それぞれから RNA を抽出し、cDNA に逆転写後、がん幹細胞マーカー遺伝子 (*SOX2*, *NANOG*, *OCT4*, *CD44*)、EMT 関連転写因子 (*SNAIL*, *SLUG*, *ZEB1*) および GPNMB の mRNA 発現を定量的 RT-PCR 法にて検討した。また、3次元スフェア培養またはマウス個体に移植し形成された腫瘍より、細胞表面 GPNMB 陽性/陰性細胞を FACS にて分取し、遺伝子発現およびスフェアまたは腫瘍の形成能を検討した。さらに GPNMB による腫瘍形成能に重要である細胞内チロシン残基が、がん幹細胞様性質の誘導にも関与しているのかについて、変異体を用いて検討した。

**【結果】** 乳がん細胞を3次元スフェア培養またはマウス個体で形成された腫瘍でのみ、GPNMB が細胞表面に出現してくることを見出した。そこで細胞表面 GPNMB 陽性細胞を分取し、その性質を調べると、幹細胞マーカーおよび EMT 関連転写因子の遺伝子発現量が高い一方、増殖マーカー遺伝子の発現が低いことが明らかになった。さらに細胞表面 GPNMB 陽性細胞は、細胞表面 GPNMB 陰性細胞に比べ、スフェアおよび腫瘍形成能が高いという結果を得ることができた。つまり、GPNMB は休眠期にあるがん幹細胞様細胞でのみ細胞表面に出現してくると思われた。また幹細胞様性質の獲得には、GPNMB による腫瘍形成能および EMT 誘導に重要な細胞内領域に存在するチロシン残基が重要であることも明らかとなった。

3次元培養スフェアと腫瘍における細胞表面 GPNMB 陽性細胞とがん幹細胞様特性の誘導

