

【目的】肉腫は、骨や軟部組織などの中胚葉由来の組織から発生する悪性腫瘍である。抗がん剤治療の導入により生命予後は改善したが、40%の症例は多発肺転移を来し、これらの症例に対する有効な治療薬の研究開発が進んでいない。肉腫は希少疾患であり、多数の臨床サンプルを用いた解析が困難であるが大きな問題であるが、単層培養では再現できない肉腫細胞を取り巻く微小環境の解析が、肉腫進展・転移の解明には必要である。近年、「自己複製能」と「多分化能」「薬剤抵抗性」などの性質を有する“がん幹細胞”の存在が明らかとなっている。肉腫においてもいくつかの報告はあるが、科学的根拠に根ざした報告は少ない。肉腫の発生・進展、転移のメカニズムを解明し、治療薬を開発するためには肉腫幹細胞の分離・同定が必要である。一方、多能性幹細胞や生検サンプルからの細胞を利用したオルガノイド研究が盛んになってきた。オルガノイドモデルは、細胞を3次元培養することにより得られる人為的に創出された組織体であり、解剖学的・機能的に生体に近い特徴を示す。2次元単層培養の肉腫細胞株が、多様性に富む真の肉腫の姿をmimicしていないことから、肉腫治療薬の開発のためには、肉腫の微小環境を再現した3次元肉腫オルガノイドモデルの確立が必要である。骨肉腫幹細胞から誘導した骨肉腫オルガノイドを用いて、骨肉腫の進展・肺転移成立のメカニズムを明らかにするとともに、治療薬の開発を行うことがこの研究の目的である。

【方法】生検の際に採取したヒト肉腫細胞とマウス骨肉腫細胞株を用いて、スフェロイド形成能を指標に幹細胞と考えられる細胞集団の同定を行い、同定した細胞集団における*Oct3/4*、*CD133*、*Nanog*など幹細胞マーカー遺伝子の発現の確認をreal-time PCRおよび免疫染色で行った。そして、スフェロイドの形態の確認を行ったうえで、同定した骨肉腫幹細胞の骨分化刺激因子(IGF-2、BMP、FGF)での分化能を確認した。さらに骨肉腫幹細胞のマウスでの造腫瘍性を確認した。

【結果】マウス肉腫細胞株LM8から骨肉腫幹細胞と考えられる細胞集団を分離した。この細胞集団の遺伝子発現解析を行ったところ、*Oct3/4*、*CD133*、*Nanog*など幹細胞マーカー遺伝子が強く発現することが確認できた。また、ニッチ刺激因子(IGF-2、BMP、FGF)で刺激したところ、骨形成を伴いつつ骨肉腫様に分化することが明らかとなった。さらに、この骨肉腫幹細胞100細胞をマウス背部皮下に移植したところ、少ない細胞数にもかかわらず、腫瘍を形成することがわかった。以上のことから我々は、骨肉腫幹細胞を同定できたと考えている。骨肉腫幹細胞から誘導した骨肉腫Organoidを用いて、骨肉腫の進展・肺転移成立のメカニズムを明らかにするとともに、治療薬の開発につなげたいと考えている。

マウス骨肉腫細胞株LM8の肉腫幹細胞のCharacterization

