

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	悪性乳癌幹細胞維持における転写因子 NF- κ B の役割解明	
研究代表者	所属・職名・氏名	東京大学・教授・井上純一郎
受入担当教員	職名・氏名	教授・後藤典子
【研究目的】	<p>乳癌は遺伝子発現パターンや治療標的分子が異なるサブタイプに分類されることが知られている。研究代表者は、これまでに乳癌細胞株を用いて難治性の Basal-like サブタイプ乳癌特異的に NF-κB-JAG1-NOTCH 経路が、がん幹細胞の維持に関与していることを見出している。本研究では、この経路によるがん幹細胞の制御が臨床検体に由来する乳癌細胞でも存在することをサブタイプ特異性に着目して解析を行う。</p>	
【研究内容・成果】	<p>臨床検体を用いて乳癌の各サブタイプの性質を保持した培養法の確立を目的として検討を行った。また、0.1 グラム程度の検体が多いため、これまでよりもより少量の細胞から効率的な培養を可能とする方法についても検討を行った。約 0.1 グラムの検体をメスで細断し、コラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼ、DNase で処理した。酵素で消化されなかった繊維等をフィルターによって取り除き、弱遠心によって癌細胞をスフェロイドのまま回収した。このスフェロイドをコラーゲンコートされた培養ディッシュに播種し HuMEC 培地で培養をしたところ、上皮細胞が伸展し増殖した。従来の酵素処理によって得られた単一懸濁細胞を播種するよりも生存率や増殖能が高く長期培養可能な腫瘍細胞が得られることが示唆された。次にサブタイプ特異的な遺伝子発現のパターンを解析したところ、スフェロイドの状態では Luminal-like サブタイプのマーカーである ESR1 や ERBB2-enriched サブタイプのマーカーである ERBB2 を強く発現する検体であっても培養後継代を数回繰り返すことで、これらのマーカー発現が低下し、Basal-like サブタイプのマーカーである FOXC1 の発現が亢進することが分かった。また、一部の腫瘍では 3~5 回程度継代を繰り返すことで Luminal-like や Basal-like サブタイプのマーカーである EpCAM の発現が低下し、Claudin-low サブタイプと良く似た表現系を示す細胞が現れることが分かった。こういったサブタイプの変化は臨床においても悪性化や治療抵抗性の発現に伴って見られることから、この培養法を用いることで、培養初期は Luminal-like サブタイプとして、数回の継代を経ることで Basal-like もしくは Claudin-low サブタイプとして継代回数ごとに異なるサブタイプの特徴を持った細胞を評価することが可能になると考えられる。また、これまでの検討から培養によって Basal-like サブタイプの性質を示すようになった細胞株について TNFα処理により JAG1 の発現が亢進し、JAG1 発現細胞との共培養によって NOTCH 刺激を加えることで乳癌幹細胞画分が増加することを見出しており、Basal-like サブタイプの乳癌において NF-κB-JAG1-NOTCH シグナルが乳癌幹細胞の維持に関与する事が示唆された。</p>	
【成果等】	【主な論文発表】	なし
	【学会発表】	なし
	【その他特筆事項】	なし