

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：大腸がんの単一細胞レベルでの発現解析を通じた治療抵抗性獲得機構の解明
2. 研究開発代表者：大畑 広和（国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所がん分化制御解析分野）
3. 研究開発の成果

### （1）ヒト大腸がんのマウス移植腫瘍における腫瘍構成細胞の遺伝子発現プロファイルの作成

平成26年度に引き続き、ヒト大腸がん手術検体より樹立した大腸がん幹細胞を免疫不全マウスの皮下に移植し、ヒト大腸がんを再構成した。作製したマウス皮下腫瘍組織より、フローサイトメトリー（FACS Aria、BD Biosciences）を用いて単一がん細胞を回収後、分取した単一がん細胞を用いて、大腸幹細胞及び分化細胞に特徴的な約50種類の遺伝子の定量PCRを施行した（Biomark HD、Fluidigm）。各細胞の遺伝子発現データを標準化し、主成分分析、ヒートマップ分析、クラスタリング分析等を適用し、これらの分析結果を総合的に評価した。その結果、大腸がん上皮組織はがん幹細胞、分化がん細胞の発現特性を有する5～6の細胞群に分けられ、大腸がん組織を構成する細胞の多様性が明らかとなった。また、大腸がん幹細胞には、増殖速度の異なる少なくとも2種類の大腸がん幹細胞が存在する事が示唆された。

### （2）抗がん剤抵抗性細胞の同定と特徴的な遺伝子発現プロファイルの作成

抗がん剤治療抵抗性細胞の遺伝子発現プロファイルの作成を目的として、担がんマウスに対して、大腸がんの標準的治療薬であるイリノテカンの腹腔内投与による抗がん剤治療を施行した。イリノテカン投与前後の移植腫瘍から腫瘍細胞を単離し、シングルセル遺伝子発現解析を行った。その結果、一つの細胞群がイリノテカン投与後に増加している事が明らかとなり、これらの細胞群が治療抵抗性を担っている事が示唆された。実際、イリノテカン投与後に残存した治療抵抗性細胞は、免疫不全マウスの皮下に再移植する事により、腫瘍を形成する能力を有する為、がんの再発に寄与している事が強く示唆された。

現在、抗がん剤抵抗性細胞を詳細にプロファイリングするため、より網羅的な遺伝子発現解析（RNAseq 解析）等を行い、抗がん剤抵抗性を規定する遺伝子群およびシグナルパスウェイ等の治療抵抗性の本態を明らかにすべく、検討を進めている。