

## RNA 階層における乳がん幹細胞制御機構の解明

内田 雄太郎、栗本 遼太、千葉 朋希、浅原 弘嗣

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 システム発生再生医学分野

乳がんは日本人女性が最も多く罹患するがんである。中でもトリプルネガティブ乳がん (TNBC) は乳がん全体の約 20% を占め、ホルモン療法や分子標的薬といった他の乳がんサブタイプで用いられるホルモン療法や分子標的薬などの明確な治療法がなく、抗がん剤による薬物療法が試みられているものの非常に予後が悪いことで知られる。このような治療抵抗性を説明する上で非常に重要ながん細胞集団が乳がん幹細胞集団である。がん幹細胞研究において Musashi-2 や NSAP1 など疾患に特異的な RNA 結合タンパク質による RNA 階層での発現制御ががん幹細胞の幹細胞性維持に関わっていることが既に報告されている (Ito et al, *Nature*. 2010, Kharas et al, *Nat. Med.*. 2010)。しかしながら、乳がん幹細胞における RNA 階層での制御機構については未解明である。

そこで我々はまず、三症例の TNBC 患者由来細胞をマウスに皮下移植したサンプルに対して scRNAseq 解析を行った。その結果として、既知の乳がん幹細胞集団マーカーを発現する細胞集団 (CD44+, NRP1+, ZEB1+, CD24-) が大きく二つの亜集団に分かれる様子が明らかとなった。この二つの亜集団の腫瘍形成能を比較するため、両亜集団をソーティングし NOG マウスに再移植することで腫瘍形成能を比較したところ、新規分子マーカーによって標識される腫瘍形成能を強く示す新規乳がん幹細胞亜集団の存在が確認された。さらに、このがん幹細胞亜集団において特異的に発現する RNA 結合タンパク質をスクリーニングしたところ、機能未知の RNA 結合タンパク質である RBPU の同定に成功し、TNBC 患者由来細胞に対してこの RBPU をノックダウンすると腫瘍形成能が大きく減少した。またこのノックダウン細胞に対して scRNAseq 解析を行ったところ、RBPU のノックダウンによって新規乳がん幹細胞亜集団が減少することが判明した。この RBPU の RNA 階層における分子制御機構を解析するために、ノックダウン細胞に対する RNA-Seq 解析、および標的 mRNA を Transcriptome wide に同定する CLIP (Crosslinking Immunoprecipitation) 解析を行ったところ、RBPU が乳がん幹細胞性を特徴づけるような遺伝子の mRNA の 3' 非翻訳領域に特異的に結合することでこれらの遺伝子の発現を安定化させることが判明した。現在この RBPU による発現制御機構を詳細に解明するために解析を継続している。