



# iPS細胞を利用する化学物質のがん幹細胞誘導性評価技術の開発

岡山大学大学院自然科学研究科(工学部) 妹尾昌治、笠井智成

E-mail: mseno@okayama-u.ac.jp, t-kasai@okayama-u.ac.jp

## 【概要】

化学物質の発がん性リスク評価は、変異原性試験や反復投与毒性試験、統計的にヒトに与える影響の評価などによって行われてきた。しかし、がん及びがん組織は特定の遺伝子変異だけによる均一な細胞の集合体ではなく、不均一な細胞の集団であり、「がん誘導性の微小環境」によって「がん幹細胞」が生じ得るなどが明らかとなってきた。私たちは、がん誘導性の微小環境に作用して、変異原性の有無に関わらず、正常な未分化細胞をがん幹細胞へ誘導する化学物質を、iPS細胞を用いて評価できる系の開発に取り組んでいる。

実験にはNanog遺伝子のプロモーターの下流にGFP遺伝子が組み込まれているマウスiPS細胞(miPSC)を用い、GFP発現が一過的に消失して分化が誘導される培養時間で、GFP陽性が維持されれば未分化な状態のがん幹細胞が誘導されたと判定できる系を現在試みている。一定時間でGFPの発現消失を誘導する培地(がん細胞株の培養上清とmiPSC用培地を混合した培地)を用い、96-wellプレートに播種したmiPSCへ、75種類の被検物質を添加して、GFP由来蛍光の観察を行ったところ、10種類の被検物質がiPSCのGFP陽性を維持し、がん幹細胞を誘導すると考えられた。現在、FACSによる解析を行うとともに、簡便なGFP陽性判定法について検討を行っている。

## 【従来法】

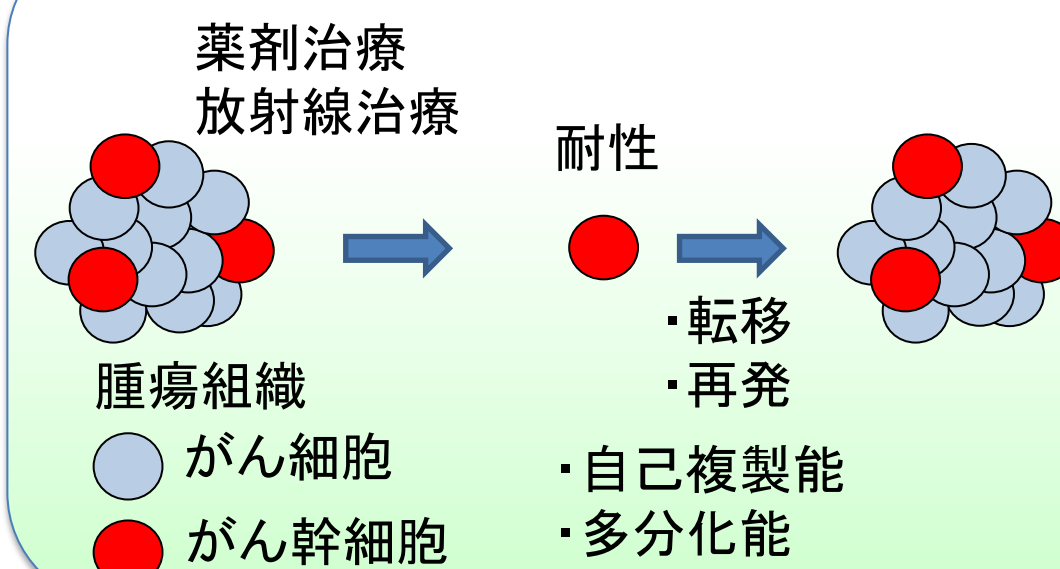
発がんの実態を評価する方法はない。

### 変異、発がんに関わる評価法

- 変異原性試験
  - 微生物を用いたエームス試験
  - 培養細胞を用いた染色体異常試験
- 発がん性試験
  - げっ歯類個体を用いた長期的(2年程度)吸入暴露試験

「がん」はがん幹細胞から始まる。

### がん幹細胞の概念



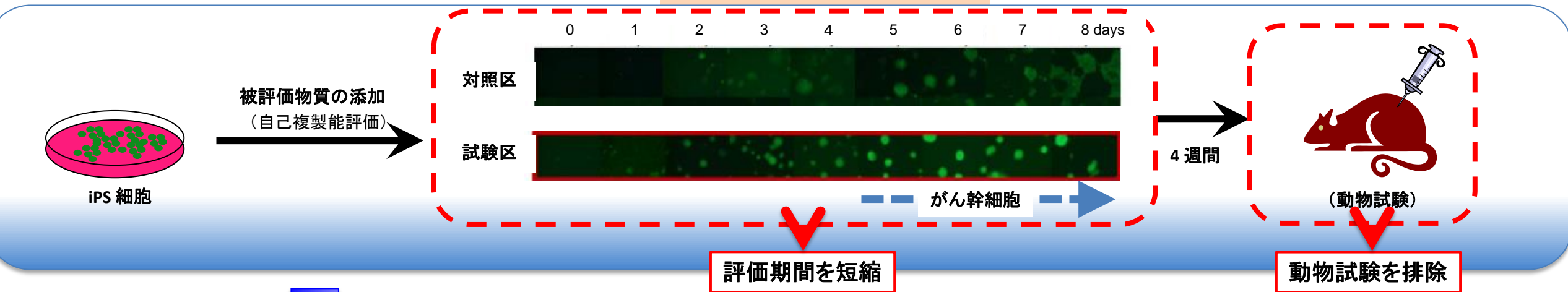
がん幹細胞の発生を直接評価するものではない

がんに対する概念の変化

発がん性を評価するには、がん幹細胞誘導性の評価が必要!

## 【iPS細胞を利用する評価法】

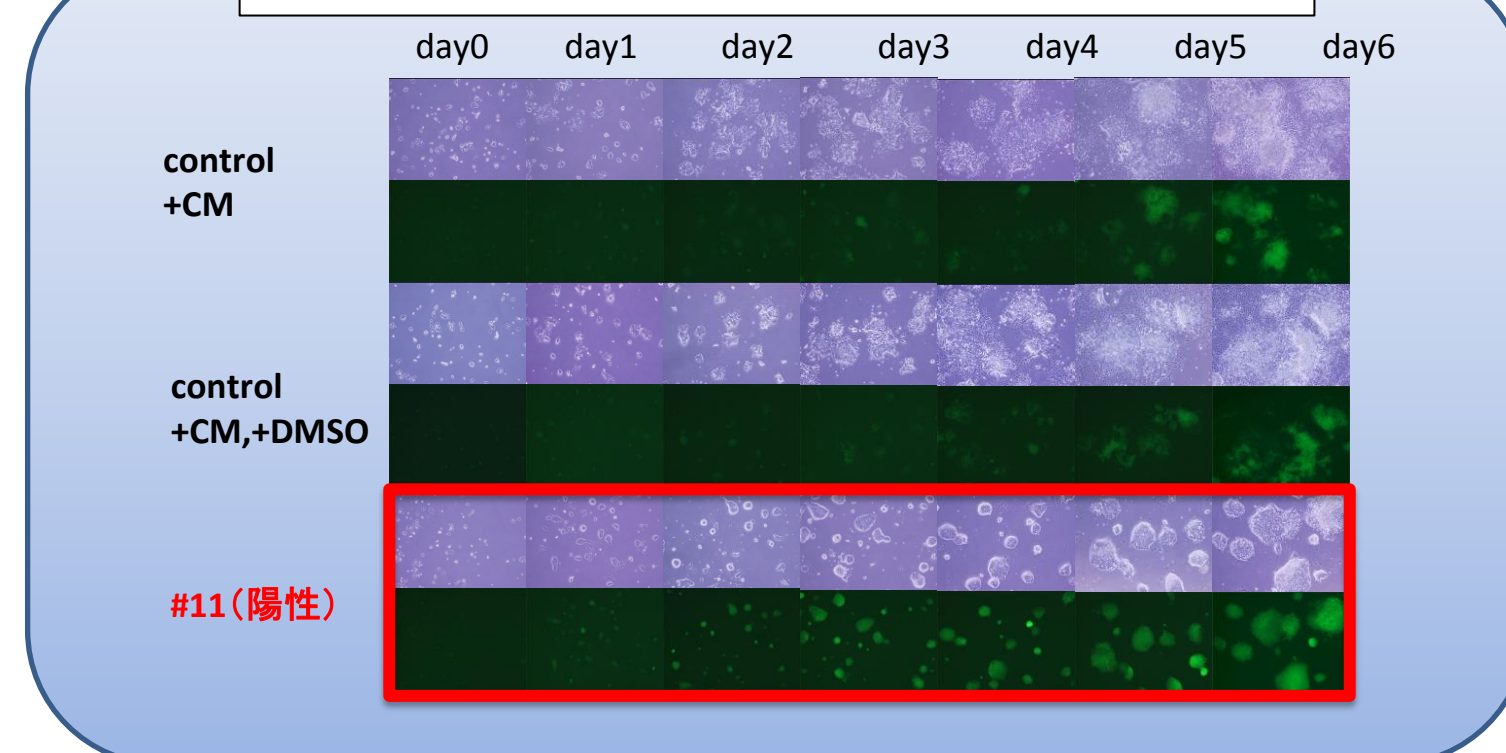
### がん幹細胞化評価試験



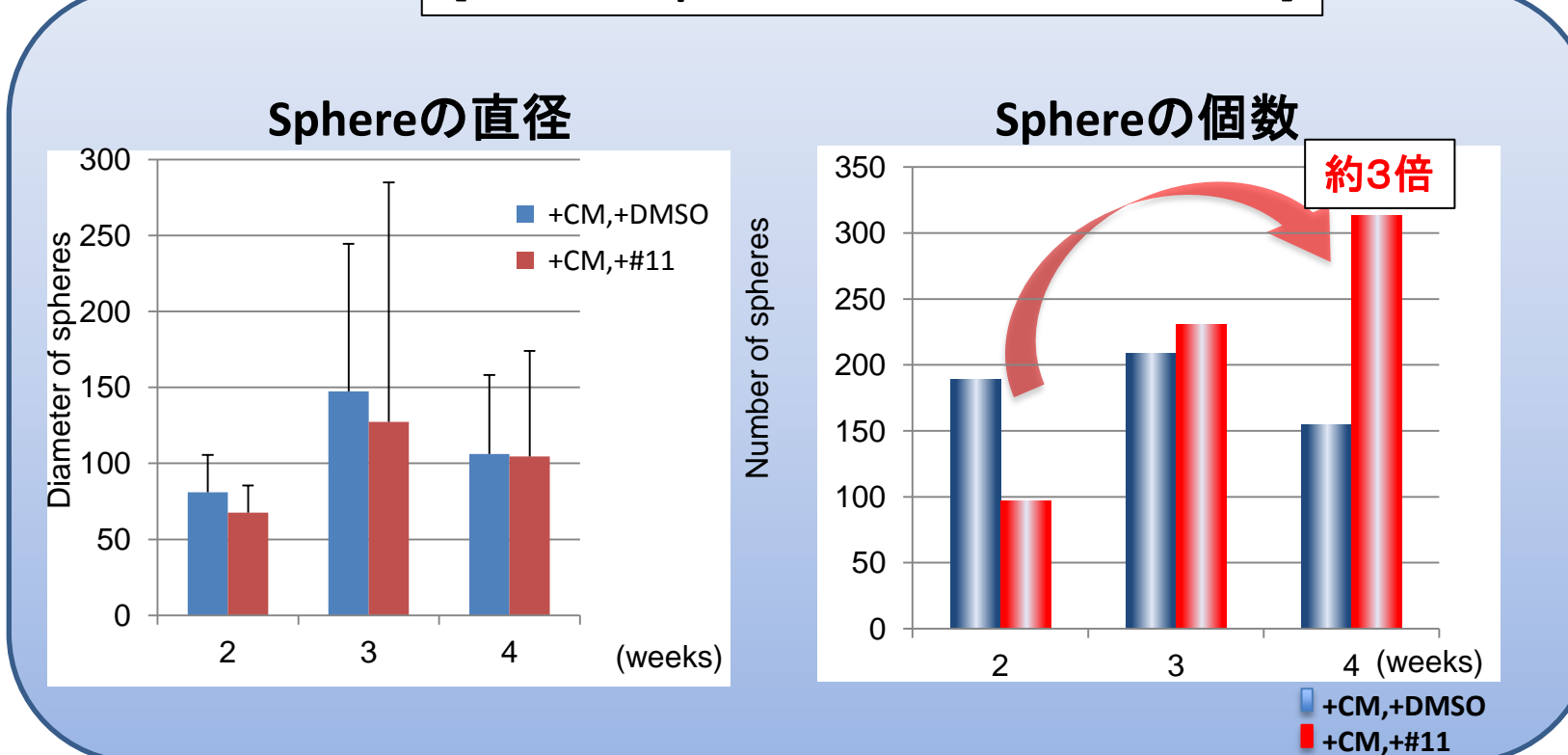
期待される効果

iPS細胞を利用して短期間で評価する方法の確立

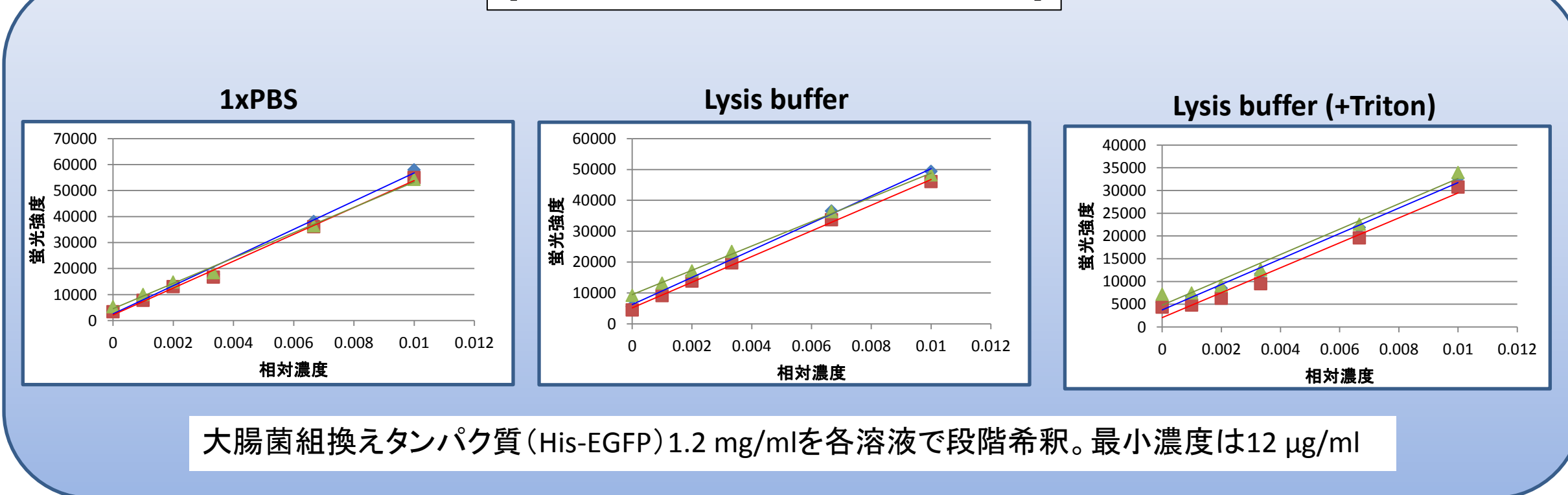
### スクリーニング結果(蛍光顕微鏡観察像)の例



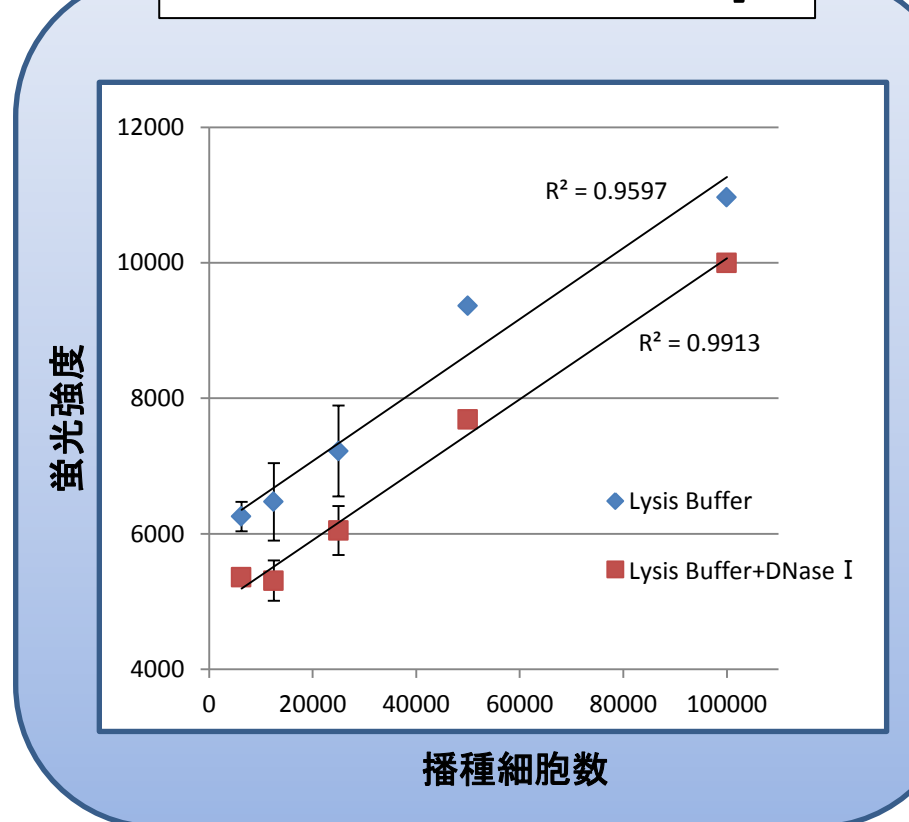
### 【細胞塊(Sphere)の直径と個数の比較】



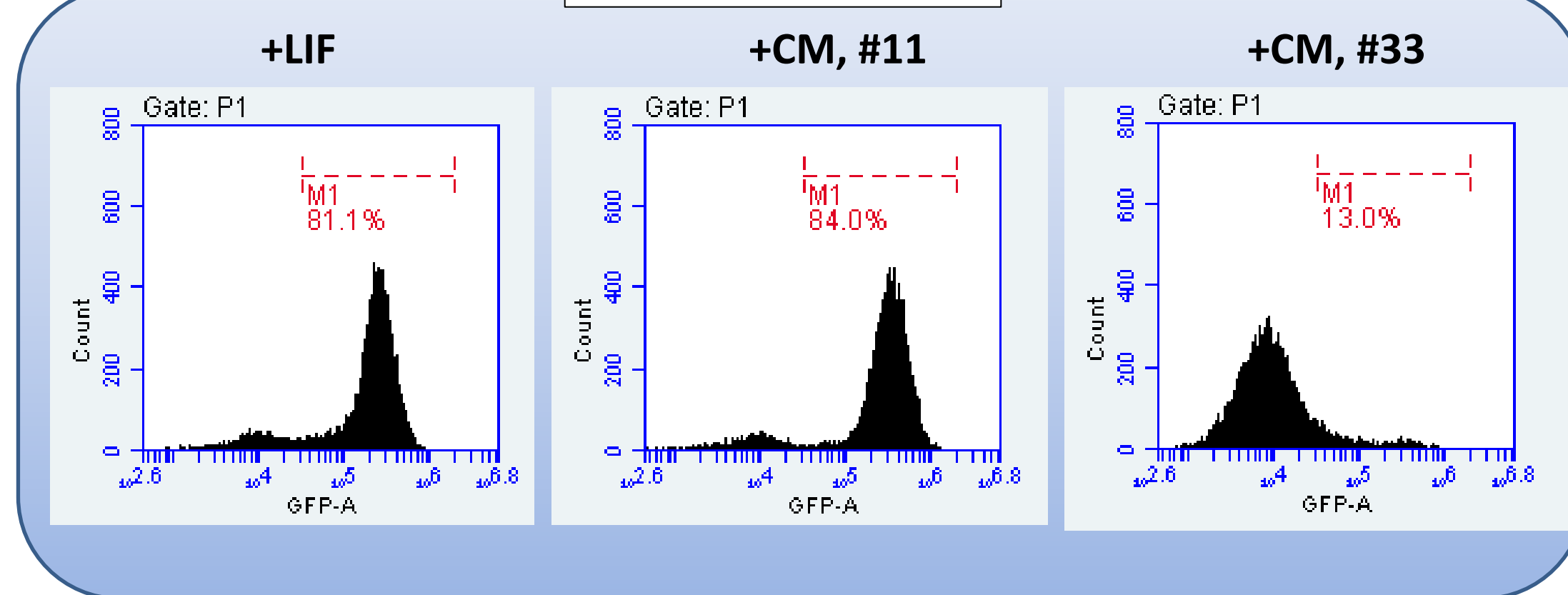
### 【精製GFPタンパク質を用いた検量線】



### 【GFP陽性細胞におけるGFP蛍光強度の数値化】



### 【GFP陽性細胞の分布】



### 【これまでの成果】

- 75種類の被検物質を添加して、GFP由来蛍光の観察を行い、10種類の被検物質がiPSCのGFP陽性を維持し、がん幹細胞を誘導すると考えられた。
- 蛍光強度を指標とした簡易判別法を開発するための足掛かりを得た。
- 造腫瘍能評価から、CM(がんの培養上清)にがん幹細胞誘導性の化学物質を添加してiPSCに曝露すると3週間以内に悪性度が亢進した性質を有すると考えられた。

### 【今後の計画】

- 発光強度を基準とした判定基準の精査。
- 簡易判定技術の開発。
- 関与するシグナル伝達経路とがん幹細胞誘導因子の解析。
- がん幹細胞誘導性の化学物質の作用機序の解明。

### 網羅的解析

- マイクロアレイ解析
- TOF-MS解析
- エピジェネティクス解析
- トランスクリプトーム解析