

# 論文審査の要旨及び担当者

報告番号	(甲) 乙 第	号	氏 名	清 野 隆 史
論文審査担当者	主 査	内科学	金 井 隆 典	
先端医科学	佐 谷 秀 行	病理学	金 井 弥 栄	
泌尿器科学	大 家 基 嗣			
学力確認担当者：			審査委員長：佐谷 秀行	
			試問日：平成30年 5月15日	
(論文審査の要旨)				
論文題名：Human Pancreatic Tumor Organoids Reveal Loss of Stem Cell Niche Factor Dependence during Disease Progression (ヒト由来膵腫瘍オルガノイドにより明らかとなった幹細胞ニッチ因子非依存性の獲得に伴う膵がんの悪性化)				
<p>ヒト検体から新たに樹立した39例の膵癌オルガノイドから成るライブラリー (PTOL) を遺伝学的かつ生物学的に解析した結果、膵癌はWntシグナルに対する非依存性を獲得しながら段階的に悪性化することが明らかとなった。</p> <p>審査では、PTOLが臨床膵癌の全体像をどれだけ反映しているといえるのかが問われた。膵癌オルガノイドの樹立効率は70~80%であり、細胞株やPDXモデルと比較するとかなり高率に樹立可能である。膵癌は95%程度の頻度でKRAS遺伝子に変異を有するが、オルガノイド培養法では培地からEGFを除くことでEGF非依存的にRASシグナルの活性化した膵癌細胞を選択的に増幅可能であり、検体に一定量の癌細胞が含まれていれば膵癌オルガノイドの樹立が可能と考えられる。加えてPTOLとThe Cancer Genome Atlasデータベースの遺伝子変異頻度を比較しても同等の結果であることから、およそPTOLは臨床膵癌の全体像を反映していると回答された。膵癌をWnt非分泌型、Wnt分泌型、Wnt/Rspondin非依存型に分類しているが、癌には不均一性が存在すると考えられており、この3つのWntサブタイプが同一腫瘍内で混在している可能性について問われた。臨床検体の組織切片を用いた検討ではWntはGATA6と相互排他的に発現しており、同一腫瘍内での不均一性がみられる。また、正常膵管細胞に膵癌のドライバー遺伝子変異を導入することで作製された人工膵癌は、Wnt非存在下でGATA6の発現低下を伴いながらWnt分泌型に変化することが示されている。したがって同一腫瘍内でも癌細胞の存在する微小環境に応じてWntサブタイプが異なる可能性があるが、膵癌オルガノイドの樹立時には得られた全細胞を混合した状態で培養しているため、よりWnt依存性の高いタイプが少量混在していても、分類上はWnt依存性の低いタイプとして判定されている可能性はあると回答された。膵癌の悪性化においてGATA6が最上位の規定因子であるのかが問われた。GATA6は膵管上皮の細胞系譜マーカーであり、正常な膵管細胞で発現している。正常な膵管細胞に由来する人工膵癌でもGATA6の発現は維持されているが、培養環境からWntを除くことでGATA6の発現は低下する。このときGATA6の上位で何らかの遺伝子に変化が起きている可能性を否定することはできないが、少なくともドライバー遺伝子変異によるGATA6の発現抑制ではなく、Wntニッチに対応したGATA6の変化が膵癌の悪性化に関与していると回答された。Wntの供給源が癌関連線維芽細胞 (CAF) である必要性について問われた。in situ hybridizationによる臨床検体中のWnt発現解析では、基本的に正常膵管上皮の周囲にある線維芽細胞ではWntの発現は検出されず、<math>\alpha</math>SMA陽性であるCAFから検出されていることから、発癌過程で誘導されたCAFからWntが分泌され、癌化に寄与していると考えられると回答された。</p> <p>以上、本研究はGATA6による具体的な転写調節機序の解明や治療への応用など、検討すべき課題は残されているものの、オルガノイド培養技術を用いてWntニッチに着目した膵癌の悪性化を明らかにした点において有意義な研究であると評価された。</p>				