

主 論 文 要 旨

| | | | | |
|--|-------|---|-----|---------|
| 報告番号 | ① 乙 第 | 号 | 氏 名 | 南 木 康 作 |
| 主 論 文 題 名 | | | | |
| Divergent Routes toward Wnt and R-spondin Niche Independency during Human Gastric Carcinogenesis (胃がん発癌過程における多様なWnt/Rspondinニッチ非依存性の獲得機構の解明) | | | | |
| (内容の要旨) | | | | |
| <p>次世代シーケンス技術の革新により胃がんの網羅的遺伝子解析が行われ、胃がんを集積している遺伝子変異が解明されつつある。しかし、遺伝子変異と腫瘍の自己増殖にかかわる腫瘍特異的な微小環境との関連については未だ不明な点が多い。私はオルガノイド培養技術を胃がんに応用し、ヒト胃がん患者より37例の胃がんオルガノイドライブラリを構築した。このオルガノイドライブラリを用いて、形質解析、次世代シーケンサーを用いた遺伝子変異解析、遺伝子発現解析、染色体異数性解析、メチル化解析を行った。36例の胃がんオルガノイド解析では、そのうち24例は増殖因子の一つであるWntリガンド依存性に増殖する胃がんであり、12例がWnt非依存性増殖を示す胃がんであることがわかった。12例のWnt非依存性胃がんオルガノイドうち6例は、Wntシグナル経路の抑制因子であるAPCの遺伝子変異あるいはタンパク喪失によってWntシグナルの恒常活性化が生じていた。残りの6例では、Wntシグナルの活性化なしで増殖し、特徴的な遺伝子(WRi genes)の発現変化とメチル化異常が生じていることが分かった。</p> <p>また、Wnt依存性胃がんオルガノイドをさらに解析した結果、24例中15例でR-spondin非依存性の増殖を示した。これらのうち5例は既に知られている<i>RNF43/ZNRF3</i>の遺伝子変異および発現低下で説明可能であったが、残りのR-spondin非依存性胃がんはこれらの遺伝子変異は見られなかった。そこで、R-spondin非依存性胃がんに集積している遺伝子変異を統計学的に解析したところ、<i>CDH1</i>と<i>TP53</i>の両遺伝子変異が有意に生じていることがわかった。これらの両遺伝子変異がニッチ非依存性に関与していることを検証するため、CRISPR/Cas9によるゲノム編集を応用し、正常胃細胞に<i>CDH1/TP53</i>の両遺伝子変異を導入したところ、R-spondin非依存性の獲得を再現することに成功した。さらに、樹立した胃がんオルガノイドが生体内で増殖することを示すため、超免疫不全マウスの腎被膜下に異種移植を行ったところ、マウス生体内で生着・増殖することが確認された。R-spondin非依存性胃がんはWntリガンドに高い依存性を示すことから、Wntをターゲットとした治療の有効性の確立のため、R-spondin非依存性胃がんオルガノイドを移植した超免疫不全マウスに、Wnt産生阻害薬であるWnt-C59を投与したところ腫瘍縮小効果がみられた。</p> <p>本研究は、Wnt阻害という現行治療にないターゲットが、胃がん治療において有効である可能性を示した。また、本研究の研究戦略であるphenotypeを基軸としたスクリーニングで同定したgenotypeを、ゲノム編集技術の応用によって再現性を検証する研究手法は、今後のがん研究において有用であると考えられる。</p> | | | | |