

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏 名	玉 川 空 樹
主 論 文 題 名				
Wnt-deficient and hypoxic environment orchestrates squamous reprogramming of human pancreatic ductal adenocarcinoma (Wnt 欠損・低酸素環境がヒト膵がんの扁平上皮リプログラミングを駆動する)				
(内容の要旨)				
<p>膵癌の多くは病理組織学的に腺管構造が比較的保たれている膵腺癌 (Pancreatic ductal adenocarcinoma: PDAC) であるが、一部は扁平上皮様の形態をとりより悪性度の高い膵腺扁平上皮癌 (Pancreatic adenosquamous carcinoma: PASC) である。KDM6Aの欠損はその発生に寄与していることが報告されているが詳しい機序は不明である。そこで患者膵癌オルガノイドの解析と人工膵癌オルガノイドの作製を通して、PASCが発生する仕組みを解明し、その治療法を探索した。</p> <p>65例の膵癌オルガノイドでライブラリーを構築し、オルガノイド培養時のWnt/R-spondinの必要性によって亜分類した。Wnt/R-spondinに依存的な群は管腔状から篩状の構造をとるが、非依存的な群は篩状から充実性構造をとる。充実性の膵癌オルガノイドは膵腺扁平上皮癌に由来し、TP63、KRT5、KRT6A等の遺伝子を高発現していた。また、PDACに由来する管腔状の膵癌オルガノイドに対してTP63を過剰発現すると充実性構造に変化し、Wnt/R-spondinに対する非依存性を獲得すると共に、免疫不全マウスへの同所移植から病理組織学的にもPASCへ変容したことが確認された。逆にPASC由来の膵癌オルガノイドに対してTP63をノックアウトすると管腔状構造に変化し、Wnt/R-spondinに依存的なPDACとなることが分かった。</p> <p>ATAC-seqおよびChIP-seqを用いたエピゲノム解析から、H3K27に対するヒストンメチル化を介した遺伝子発現制御がPDACとPASCの差異を引き起こしている可能性が示唆された。そこでH3K27に対する脱メチル化酵素であるKDM6AがPASCの原因となり得るかを調べるため、正常膵臓オルガノイドにKRAS、CDKN2A、TP53の遺伝子変異を導入したKCTオルガノイドを用いると、KDM6Aの変異のみではPASC誘導に不十分であり、同時にGATA6のノックアウトおよびWnt/R-spondinの除去が必要であることが明らかになった。一方、全てのPASCがKDM6Aの変異を有するわけではないこと、PASCで低酸素関連遺伝子の発現が上昇していることから、低酸素環境がPASCを誘導すると考えた。実際、GATA6をノックアウトした人工膵癌オルガノイドを低酸素環境下かつWnt/R-spondin非存在下で培養することでPASCに変化することを実証し、外部環境に起因したエピジェネティックな変化が膵癌を組織レベルで変容することを明らかにした。</p> <p>最後に、膵癌オルガノイドを用いた解析で、ヒストンメチル化を抑制するEZH2阻害薬がPASCに治療効果があることを示し、PASCに対する治療選択肢の一つとなることが期待された。</p>				