

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	清 野 隆 史
主 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)				
(内容の要旨) 近年、遺伝子発現解析によって膵がんを予後別に層別化できることが報告されているが、これまでの細胞株や遺伝子改変マウスを用いた実験系では層別化されたサブタイプの生物学的差異を明らかにすることは困難であり、膵がん治療へ応用できていないのが現状である。 そこで外科的切除、内視鏡的手法によって膵腫瘍細胞を採取し、臨床上遭遇する膵腫瘍の性質を遺伝学的かつ生物学的に反映した39種類の膵腫瘍オルガノイドを樹立した。幹細胞性を維持しながら細胞が増殖し続けるためには、正常細胞であれば複数のニッチ因子の存在が不可欠である。一方、がん細胞はある特定の遺伝子に異常がみられる場合、対応するニッチ因子が不要となることがあるが、膵がんにおけるWntとRspodin (いずれもWntシグナル上のニッチ因子) の必要性については遺伝子異常以外の仕組みが存在すると考えられ、これら2つのニッチ因子の必要性に応じて機能的に異なる3つのサブタイプに分類されることが明らかとなった。すなわち、①WntとRspodinがいずれも必要なタイプ。このタイプはがん関連線維芽細胞がWntの供給源であると考えられた (Wnt非分泌型)。②Wntは不要であるがRspodinは必要とするタイプ。このタイプは自己分泌性のWntに依存していると考えられた (Wnt分泌型)。③WntとRspodinがいずれも不要なタイプ。このタイプはWntシグナルに対して完全に非依存的に増殖可能であると考えられた (Wnt/Rspodin非依存型)。 遺伝子発現マイクロアレイ解析では、3つのサブタイプの遺伝子発現パターンはWnt非分泌型、Wnt分泌型、Wnt/Rspodin非依存型の順に連続的に変遷するとともに、既報の遺伝子セットを用いて算出した予後不良スコアもこの3つのサブタイプの順に上昇していた。また、メチル化マイクロアレイ解析からWntシグナル非依存性の獲得には転写因子であるGATA6の発現が関与していると考えられた。そこでWnt非分泌型に対してGATA6をノックダウンあるいはノックアウトすると、Wntの発現上昇とともにWnt非存在下での細胞増殖が可能となった。反対に、Wnt分泌型に対してGATA6を過剰発現すると、Wntの発現低下とともにWnt非存在下での細胞増殖能が著しく低下した。続いてCRISPR/Cas9システムを用いて膵がんの代表的な4つの遺伝子変異 (KRAS、CDKN2A、TP53、SMAD4) を正常膵管培養細胞に導入し、人工膵がんを作製することに成功した。この人工膵がんはWntの存在しない環境に徐々に適応し、GATA6の発現低下を伴いながらWntの自己分泌能が亢進していくことが示された。 以上から膵がんはGATA6の発現低下と並行して、Wntシグナルに対して段階的に非依存性を獲得しながら悪性化していくものと考えられた。				