

論文内容要旨

Establishment of oxaliplatin-resistant gastric cancer organoids: importance of myoferlin in the acquisition of oxaliplatin resistance

(オキサリプラチン耐性胃癌オルガノイドの樹立及びオキサリプラチン耐性獲得における Myoferlin の意義)

Gastric Cancer, 24:1264-1277, 2021.

主指導教員：酒井 規雄教授
(医系科学研究科 神経薬理学)

副指導教員：坂口 剛正教授
(医系科学研究科 ウイルス学)

副指導教員：宮内 睦美教授
(医系科学研究科 口腔顎顔面病理病態学)

原田 健司

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

胃がんは世界の死亡率第三位のがんである。進行・再発症例に対しては化学療法が実施され、オキサリプラチン(L-OHP)はその一次治療で用いられている。L-OHPは白金製剤の一種であり、正確な作用機序は現在も議論が続いているが、一般的にDNAやRNAにcross-linkを形成することで抗腫瘍効果を示すと考えられている。一定の患者は化学療法による治療効果を得られる一方で、治療経過中に腫瘍細胞が耐性を獲得する例が大多数を占めているのが現状である。抗がん剤耐性の原因の一つに、がん細胞の中でも特に自己複製能、多分化能をもち、治療抵抗性の高いがん幹細胞の存在が挙げられる。がん幹細胞は、抗がん剤投与時にフェノタイプを変化させながら、さらなる治療抵抗性を獲得すると考えられている。しかし、現在に至るまで、がん幹細胞に焦点を当てたL-OHP耐性機構の詳細な検討は行われておらず、臨床転帰を予測する有効なバイオマーカーや治療標的も知られていない。従って本研究では、幹細胞を含む細胞群を三次元培養できるオルガノイド技術を主に用いて、L-OHP耐性胃がん幹細胞の分子生物学的な特徴を明らかにするための解析を、以下の通り実施した。

外科的切除検体から樹立した胃がんオルガノイドに対し、約50日間L-OHPを濃度を段階的に上げながら添加し続けることで、L-OHP耐性胃がんオルガノイドを樹立した。次にそれら耐性オルガノイドのマイクロアレイ解析を実施した。その結果と、既報の5-FU耐性胃がんオルガノイドのマイクロアレイ解析結果を統合し解析したところ、遺伝子発現プロファイルは5-FU耐性とL-OHP耐性で大きく異なっていることが明らかとなった。L-OHP耐性胃がんオルガノイド特異的に発現上昇していた遺伝子を探索した結果、myoferlin (MYOF)を同定した。8例の胃がんオルガノイドを用いた抗がん剤感受性試験とqRT-PCRの結果、MYOFの発現量が胃がんオルガノイドの示すL-OHPのIC50と有意に相関することが明らかとなった。更に、TCGAなどの公共データベースにおいて、胃がんのMYOF高発現が予後不良と関連することや、MYOF発現とがん幹細胞関連分子や上皮間葉転換関連分子の発現が正に相関することが分かった。続いて、胃がん組織標本におけるMYOFの免疫組織化学染色を実施した。MYOFは非腫瘍部より腫瘍部で発現が高く、腫瘍部におけるMYOF高発現症例は予後不良であるだけでなく、T grade、N grade、リンパ管侵襲とも有意に相関することも明らかとなった。また、L-OHPを含む白金製剤を使用した症例に限定して解析を行った場合でも、MYOF高発現群が有意に予後不良となり、MYOF発現が独立した予後不良因子となることも発見した。MYOFのノックダウンによる機能解析を、in vitroで細胞株とオルガノイドの両方を用いて行った結果、L-OHP耐性、細胞増殖、幹細胞性、遊走能、浸潤能が有意に抑制された。また、MYOFノックダウンはin vivoにおける腫瘍形成能も抑制することが分かった。治療標的としてのMYOFの有効性をさらに検討するため、MYOF阻害剤であるWJ460をオルガノイドに投与した上でL-OHP感受性試験を実施した。その結果、MYOF阻害によりL-OHPのIC50が有意に減少することが明らかとなった。

本検討で、胃がんにおける新規バイオマーカー及び治療標的としてMYOFを同定した。また、MYOF発現とT grade、N grade、リンパ管浸潤との間にみられた相関、公共データベースにおいて示唆されたMYOFとEMTとの関連、MYOFのノックダウンによる幹細胞性の減少などの

結果を総合的に考察すると、MYOF の機能は EMT とも関連している可能性が高いと考えられる。また、マイクロアレイ解析から 5-FU と L-OHP 耐性機構は大きく異なることが明らかとなったことから、MYOF の機能を理解することが、現在も議論の続く L-OHP の作用機序に新たな側面を見出す一助になることも期待できる。

以上、本検討の結果から、胃のがん幹細胞において MYOF は L-OHP 耐性と腫瘍進展に強く関与していることが示唆され、特に L-OHP 耐性胃がんのマーカー及び治療標的として有用であると結論づける。