

## 論文審査の結果の要旨

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                    |       |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------|-------|
| 博士の専攻分野の名称                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 博士（医学）             | 氏名    | 原田 健司 |
| 学位授与の条件                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 学位規則第 4 条第 1、2 項該当 |       |       |
| <p>論文題目</p> <p>Establishment of oxaliplatin-resistant gastric cancer organoids: importance of myoferlin in the acquisition of oxaliplatin resistance<br/> （オキサリプラチン耐性胃がん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）</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                    |       |       |
| 論文審査担当者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                    |       |       |
| 主査                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 教授                 | 岡 志郎  | 印     |
| 審査委員                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 教授                 | 田中 信治 |       |
| 審査委員                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 講師                 | 仙谷 和弘 |       |
| <p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>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。</p> <p>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。</p> |                    |       |       |

以上の結果から、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 耐性胃癌のマーカー及び治療標的として有用であると考えられる。

このように、本研究で明らかとなった胃癌におけるがん幹細胞の L-OHP 耐性機構に関する知見は、胃癌の病態生理の理解に学術的進展をもたらした。よって審査委員会委員全員は、本論文が原田健司に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。