

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	太田 浩志
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Establishment of a novel overlay culture method that enables immune response assessment using gastric cancer organoids (免疫応答の評価を可能とする胃癌オルガノイドの新規培養法の確立)			
論文審査担当者			
主 査	教授	伊藤 公訓	印
審査委員	教授	保田 朋波流	
審査委員	講師	仙谷 和弘	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>胃癌の治療成績は手術手技や化学療法の発展により向上しつつあるが、未だ改善の必要がある。近年、免疫チェックポイント阻害薬の開発によりさらなる予後改善が期待されているが、免疫チェックポイント阻害薬は効果を認める患者には大きな治療効果をもたらす反面、効果を示さない患者にはほぼ治療効果がなく、バイオマーカーの同定もいまだ十分ではない。近年、in vitro で患者胃癌組織を 3 次元的に再現できるオルガノイドの研究が発展してきており、オルガノイドと免疫細胞の共培養の報告もなされてきている。しかし、オルガノイドを 3 次元培養するためには基底膜を模した細胞外マトリックスにオルガノイドを完全包埋する必要があり、その細胞外マトリックスが免疫細胞の侵入を阻害し、免疫細胞と胃癌オルガノイドが十分に接触できないという問題がある。</p> <p>この度、胃癌オルガノイドをマトリゲルの内部に包埋するのではなく、あえて well 底をマトリゲルでコーティングした表面で胃癌幹細胞を培養したところ、マトリゲルに包埋しなくても上方に向かって 3 次元的に成長することを発見した。この培養法での胃癌オルガノイドはマトリゲル表面に露出するように成長しており、免疫細胞と共培養すると、胃癌オルガノイドと免疫細胞が自由に、さらに十分に接触できることを確認し、この新規オルガノイド培養方法をオーバーレイ培養法と名付けた。</p> <p>オーバーレイ培養法の胃癌オルガノイドは通常培養法の胃癌オルガノイドと同様に 3 次元構造を維持しており、またこの二つの培養法の胃癌オルガノイドはマイクロアレイにおいても解析遺伝子のうち 17,818/17,834 (99.91%) が同様の mRNA expression level を示しており、HE 染色や免疫染色においても同じ表現型を呈しており、オーバーレイ培養法の胃癌オルガノイドは通常培養法の胃癌オルガノイドとほぼ同等の性質を維持していることも証明した。さらにこれらは手術時に採取した胃癌検体とも同一の表現型を維持していることも証明した。</p> <p>この患者の胃癌の性質を再現したオーバーレイ培養法での胃癌オルガノイドを用いて免疫細胞との共培養を行い、組織傷害性試験を行った。まずは健常人の Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC) と胃癌オルガノイドを共培養したところ、PBMC により 66.1% の胃癌オルガノイドの組織破壊を呈した。続いて、同様に健常人の Natural Killer (NK) 細胞と胃癌オルガノイドを共培養したところ、55.1% の胃癌オルガノイドの組織破壊を呈した。最後に、胃癌患者から胃癌オルガノイドを樹立し、その同一胃癌患者血液由来の NK 細胞と共培養したところ、患者由来 NK 細胞により 91.6% の胃癌オルガノイドの組織障害性を呈することを証明した。さらに、その組織障害の様子をタイムラプスでも撮影することに成功し、時間の経過に伴う免疫応答と組織破壊のリアルタイムでの観察が可能となった。また一方で胃癌患者の正常胃粘膜組織由来のオルガノイドに対しては胃癌 NK 細胞が傷害性を呈さないことも証明した。</p> <p>以上の結果から、本論文はこのオーバーレイ培養法は免疫細胞による組織障害性の評価には有用なモデルであると考えられる。本研究において患者血液を用いて検討したのは NK 細胞との共培養のみであり、免疫細胞の機能評価も行っていないこと、また胃癌の microsatellite instability (MSI) やサブタイプも評価できていないことは課題であるが、このオーバーレイ培養法での組織障害の評価モデルは他の免疫細胞との共培養も可能であり、さらに、胃癌オルガノイドと免疫細胞の共培養により体内で起こりうる免疫応答</p>			

での組織障害を in vitro において繰り返し評価が可能となった。今後は免疫チェックポイント阻害薬などの治療効果予測やバイオマーカーの検索への応用ができる可能性もあるモデルであると考えている。

よって審査委員会委員全員は、本論文が太田浩志に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。