論　文　内　容　要　旨

論文題目
膵癌組織オルガノイド培養とゲノム解析による新規分子標的同定

責任講座：　外科学第一　　講座
氏　　名：　髙橋　利真

【内容要旨】（1,200 字以内）

背景：膵臓癌は予後不良の癌腫の１つであり、診断確定の時点で切除不能進行癌であることが多く、また有効な化学療法の選択肢が少ないのが現状である。オルガノイドは従来の細胞培養と比べ、細胞の多様性を保持した状態で、生体内での構造、機能を再現できる培養法であり、近年の癌の病態解明・標的治療の研究に用いられている。また、腫瘍細胞とその周囲の免疫細胞や線維芽細胞を指す癌微小環境が新規の標的療法の研究対象とされており、膵癌の領域においても癌関連線維芽細胞（CAF）に関する研究が散見される。膵臓癌の病態解明・治療の発展には、オルガノイドを用いた新規の分子標的の検索や癌微小環境を標的とした病態解明と治療法開発するために腫瘍-線維芽細胞間の相互作用を解析することが急務と考えられる。

対象と方法：東北大学病院で膵癌の診断で切除術を施行した 21 例を対象に、切除サンプルから腫瘍由来のオルガノイド培養を施行した。9 例でオルガノイドを樹立した。その内、4 例およびその組織標本に対して全エクソーム解析を行い、分子異常を指標とした標的療法の開発のためオルガノイドを用いた標的解析を行った。また、同時期に培養したヒト膵臓由来の線維芽細胞を用いてオルガノイドとの共培養モデルを作成し、空間トランスクリプトーム解析を施行した。

結果：オルガノイドと組織標本の全エクソーム解析においては *KRAS, SMAD4, CDKN2A, TP53* の膵癌の主なドライバー遺伝子の他、*PRKACB* 等のプロテインキナーゼ、*DUSP6* などのフォスファターゼ、*RNF43* などの WNT シグナルに関連する遺伝子、*SLC2A1* などのトランスポーター遺伝子の変異が両者に認められ、オルガノイドにおいておよそ同様の変異が保持されていることが確認できた。*SMAD4* が 4 例いずれでも異なる変異を有しており、Aurora Kinase A (AURKA）抗体である TC-S を投与したところ *SMAD4* のフレームシフト変異やナンセンス変異を有するオルガノイドにおいては増殖抑制傾向を認めた。共培養モデルにおいては線維芽細胞がオルガノイド細胞を取り囲む分布像を呈しており、空間トランスクリプトーム解析では CAF と近接している細胞では近接していない細胞と比べてインターロイキン、血管新生、細胞外マトリクス等に関わる遺伝子セットの発現変動を認めた。

結語：膵癌患者由来のオルガノイドを樹立し、およそ原発巣と同様の遺伝情報が保持されることが確認でき、標的治療法開発に資する結果を得ることができた。オルガノイドと CAF の共培養における遺伝子発現の変化を、空間トランスクリプトーム解析を行い初めて明らかにすることができた。

2024年　12月　25日

山形大学大学院医学系研究科長　殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：髙橋 利真
論文題目：膵癌組織オルガノイド培養とゲノム解析による新規分子標的同定
審査委員：主審査委員　　枡本　昌彦　㊞
　　副審査委員　　浅尾　裕信　㊞
　　副審査委員　　佐藤　慎哉　㊞

審査終了日：　　2024年　　12月　　23日

【論文審査結果要旨】

膵臓癌は有効な化学療法の選択肢が少なく予後不良であることが問題である。病態を解明し、その分子標的を明らかにして治療成績を向上させることが急務である。オルガノイドは細胞の多様性を保持した状態で生体構造・機能を再現可能であり、癌の病態解明に用いられている。本研究は膵臓癌オルガノイドを樹立し、新規分子標的の検索、そして腫瘍細胞と癌関連線維芽細胞（CAF）等から成る癌微小環境の解析を行ない、膵臓癌の新規治療候補となる分子を探索することを目的としている。

東北大学病院で切除術を施行した膵臓癌21例の切除サンプルから腫瘍由来のオルガノイド培養を行なった。4例で適切なオルガノイドを樹立し、その解析を行なった。オルガノイドと組織標本の全エクソーム解析を実施したところ、主なドライバー遺伝子であるKRAS・SMAD4・CDKN2A・TP53の他、PRKACB等のプロテインキナーゼ・DUSP6などのフォスファターゼ・RNF43などのWNTシグナル関連遺伝子・LC2A1などのトランスポーター遺伝子の変異が両者に認められ、オルガノイドにおいても原発巣とほぼ同様の変異が保持されていることが確認できた。4例に共通して変異を有していたSMAD4に関連するAurora Kinase Aの抗体であるTC-Sを各オルガノイドに投与したところフレームシフト変異やナンセンス変異を有するオルガノイドにおいて増殖抑制効果を認め、この経路の阻害の重要性が示された。またヒト膵臓癌由来のCAFとオルガノイドとの共培養モデルを作成し、空間トランスクリプトーム解析を施行した。CAFがオルガノイド細胞を取り囲む分布像を呈しており、空間トランスクリプトーム解析ではCAFと近接する細胞では近接していない細胞と比べ、インターロイキン・血管新生・細胞外マトリクス等に関わる遺伝子セットの発現が変動することを明らかにした。

本研究では原発巣と同様の遺伝情報が保持された患者由来の膵臓癌オルガノイドを樹立することができた。手技の改良により、樹立の効率を改善しうる可能性が示唆された。オルガノイドを用いて、SMAD4を標的とした治療が個体によっては有用であることを示した。そしてオルガノイドとCAFの共培養における遺伝子発現の変化を明らかにすることができた。

膵臓癌の予後を改善する治療開発の礎となり、今後の発展が期待できる優れた研究である。審査員からの質問にも適切に対応し、提出論文の一部修正を行なうことを前提として博士（医学）の学位に値すると判断した。