

審査の結果の要旨

氏名 畑 昌宏

本研究は未分化型胃癌の発生メカニズムを検討するため、多種の遺伝子改変マウスを用いて *in vivo*、*in vitro* の双方において未分化型胃癌モデルを作成し解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. *Mist1*-CreERT システムを用いた遺伝子改変オルガノイドを複数種作成し、そのうち *Mist1*-CreERT; *Kras*^{G12D}; *Tgfbr2*^{flx/flx}; *Cdh1*^{flx/flx} マウスより樹立したオルガノイドのヌードマウスへの皮下移植によって未分化型胃癌様腫瘍を作成した。
2. *Mist1*-CreERT システムでは不十分であった遺伝子改変効率を改善するためにレンチウイルスを用いた遺伝子改変システムを用いた遺伝子改変オルガノイドを複数種作成した。Cre 発現レンチウイルスを感染させた遺伝子改変オルガノイドのヌードマウスへの皮下移植により、*Tgfbr2*^{flx/flx}; *Cdh1*^{flx/flx} オルガノイド、LSL-*Trp53*^{R172H}; *Tgfbr2*^{flx/flx}; *Cdh1*^{flx/flx} オルガノイド、LSL-*Kras*^{G12D}; *Tgfbr2*^{flx/flx}; *Cdh1*^{flx/flx} オルガノイド、LSL-*Kras*^{G12D}; LSL-*Trp53*^{R172H}; *Tgfbr2*^{flx/flx}; *Cdh1*^{flx/flx} オルガノイドの4種からは未分化型胃癌様腫瘍が形成され、LSL-*Kras*^{G12D}; LSL-*Trp53*^{R172H}; *Apc*^{flx/flx} オルガノイド、LSL-*Kras*^{G12D}; LSL-*Trp53*^{R172H}; *Apc*^{flx/flx}; *Tgfbr2*^{flx/flx} オルガノイドの2種からは分化型胃癌様腫瘍が形成された。免疫染色において、未分化型胃癌様腫瘍では線維芽細胞やマクロファージなどの間質細胞が豊富であり、また *Wnt5a* の発現が分化型胃癌様腫瘍に比し増加しているなど、双方で異なる増殖メカニズムがあることが示唆された。
3. *Tff1*-Cre マウスという幹細胞領域を含む胃粘膜表層領域に遺伝子改変を導入するマウスを利用し、*Tff1*-Cre; LSL-*Trp53*^{R172H}; *Tgfbr2*^{flx/flx}; *Cdh1*^{flx/flx} マウスを作成したところ、スキルス胃癌を模倣するような漿膜浸潤を伴う未分化型胃癌を呈した。ヌードマウスへの皮下移植実験と同様に、未分化型胃癌周囲は線維芽細胞などの間質が増加していた。上記で作成した遺伝子改変オルガノイド (LSL-*Trp53*^{R172H}; *Tgfbr2*^{flx/flx}; *Cdh1*^{flx/flx} オルガノイド) とマウスモデルの腫瘍を RNA sequence によって解析を行うと、オルガノイドとマウスモデルの双方で線維化や血管新生に関わる遺伝子群が増加していることが判明した。

以上、本論文は未分化型胃癌モデルの作成に成功し、未分化型胃癌の発生に重要と思われる遺伝子変異の組合せを示した。未分化型胃癌マウスモデルは新規のモデルであり、今後治療実験など未分化型胃癌の様々なメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。