

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 吉原 靖典

本研究はマウス胆道系オルガノイドに対して、ウイルスベクターを用いてがん関連遺伝子を導入し、免疫不全マウスの皮下に接種することで、腫瘍形成能を評価したものである。このオルガノイド発がんモデルは、従来の遺伝子改変マウスモデルと比較して、簡便に胆道がんの多段階発がん過程の再現が可能であり、下記の結果を得ている。

1. マウス胆管オルガノイドにレンチウイルスベクターを用いて *Kras* 遺伝子変異を誘導し、免疫不全マウス皮下に接種したが、腫瘍形成は認められなかった。*Kras* 遺伝子変異単独では腫瘍形成には不十分であった。
2. マウス胆管オルガノイドに対して、*Kras* 遺伝子変異に加え、肝内胆管癌で変異していることの多い腫瘍抑制遺伝子である *Cdkn2a* および/または *Pten* を shRNA によりノックダウンした。免疫不全マウス皮下に移植すると、ほぼ全例において固形腫瘍が誘導された。
3. *Kras* 活性化変異を有するマウス胆管オルガノイドに腫瘍抑制遺伝子である *Apc* または *Trp53* を shRNA を用いてノックダウンすると全例で固形腫瘍を生じた。遺伝子導入の時間的順序を反対とし、*Apc* または *Trp53* のノックダウン後に *Kras* 変異を誘導した場合にも同様に固形腫瘍を生じた。すなわち *Apc* または *Trp53* のノックダウンは、遺伝子導入の時間的順序にかかわらず、*Kras* 活性化変異と協調して腫瘍形成を認めた。
4. がん遺伝子である *Pik3ca* 活性化変異をマウス胆管オルガノイドに誘導し、腫瘍抑制遺伝子である *Cdkn2a* または *Pten* を shRNA によりノックダウンしたが、非腫瘍性の嚢胞性病変のみを生じた。
5. 肝内胆管癌において特異的に検出される *FGFR2-AHCYL1* 融合遺伝子をレトロウイルスベクターによりマウス胆管オルガノイドに導入した。継代初期のオルガノイドでは腫瘍形成は認められなかったが、継代を繰り返した長期培養オルガノイドにおいては腫瘍形成を認めた。長期培養により未知の遺伝的またはエピジェネティックな異常が蓄積された状況ではあるが、融合遺伝子は胆管オルガノイドからの腫瘍形成を促進

する可能性が示唆された。

6. マウス胆嚢オルガノイド対して、レンチウイルスベクターを用いて *Kras* 遺伝子変異を誘導し、続いて shRNA による *Cdkn2a* または *Pten* の抑制を導入すると固形腫瘍を生じた。*Kras* 変異なしには腫瘍形成は認められず、腫瘍形成における *Kras* 活性化細胞の必要性が示唆された。

以上、本研究では胆道がんの多段階発がん過程の再現を通じて、発がんに関与する遺伝子の相互作用を簡便に検証可能な新規モデルを確立した。胆道系オルガノイド発がんモデルを用いることにより胆道がんの発がんメカニズムの解明およびその治療法の開発への応用が期待される。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。