

氏 名 太 田 裕 之

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 5 8 3 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 2 1 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Crosstalk between Hedgehog and Epithelial-mesenchymal Transition Pathways in the Gastric Pit Cells and in Diffuse-type Gastric Cancers

(胃腺窩上皮およびスキルス胃癌におけるヘッジホッグ経路と上皮間葉転換経路のクロストークについての検討)

審 査 委 員 主 査 教 授 岡 部 英 俊

副 査 教 授 小 笠 原 一 誠

副 査 教 授 岡 田 裕 作

## 論文内容要旨

※整理番号	588	(ふりがな) 氏名	おおた ひろゆき 太田 裕之
学位論文題目	<b>Crosstalk between Hedgehog and Epithelial-mesenchymal Transition Pathways in the Gastric Pit Cells and in Diffuse-type Gastric Cancers</b> (胃腺窩上皮およびスキルス胃癌におけるヘッジホッグ経路と上皮間葉転換経路のクロストークについての検討)		
<p>&lt;研究の目的&gt;</p> <p>ヘッジホッグ経路は広い生物種でよく保存され、胎生期のパターン形成、組織分化などにおいて重要な役割を果たしているが、がんにおいてヘッジホッグ経路の恒常的な活性化が腫瘍の進展に寄与するという報告が相次いでいる。一方、上皮細胞が間葉系細胞へと分化転換する Epithelial-mesenchymal transition (EMT) は発生段階における原腸陥入や器官形成で見られる現象であるが、腫瘍の進展においても同様の分子メカニズムが働いていることが報告されてきている。これらヘッジホッグ経路と EMT 経路とのクロストークについて、現在までに、ほとんど報告はない。そこで胃癌の進展における両経路の役割、クロストークについて検討した。</p> <p>&lt;方法&gt;</p> <p>胃切除標本を用いてマイクロアレイ解析を行った。ヘッジホッグ経路と EMT 経路に関連する遺伝子群について胃切除標本を用いた RT-PCR および免疫組織染色による発現解析を行った。ヘッジホッグ経路の特異的阻害剤であるシクロパミンで処理した胃がん細胞株およびマウス胃培養細胞を用いて発現解析を行った。また胃がん細胞株を用いた siRNA によるノックダウン実験およびマトリゲル浸潤検査を行った。</p> <p>&lt;結果&gt;</p> <p>マイクロアレイ解析により分化型胃癌と未分化型胃癌においてそれぞれ特徴的な遺伝子プロファイルを得た。未分化型胃癌に特徴的な 704 の遺伝子リストには間葉系マーカーとされるいくつかの遺伝子が含まれていた。胃切除標本での RT-PCR および免疫組織染色により、これらの間葉系遺伝子が正常胃粘膜の胃小窩部上皮においても発現していることを確認した。さらに EMT regulator である SIP1 とヘッジホッグ関連遺伝子、特に modulator である SMO、GLI1 の発現パターンに相関性を見出したため、シクロパミンを用いて胃がん細胞株およびマウス胃培養細胞で阻害実験を行った結果、ヘッジホッグ経路の下流に SIP1 を含む EMT regulator が存在する可能性が判明した。また胃がん細胞株を用いた siRNA による GLI1 および GLI2 のノックダウン実験により、GLI1 の下流に EMT regulator が存在することが判った。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

さらに胃がん細胞株を用いた siRNA による SIP1 のノックダウン実験により、SIP1 の下流に他の EMT regulator である SNAI2 や TWIST2 が位置し、さまざまな間葉系で働く受容体を制御していることが明らかになった。

正常胃粘膜では発現を認めず、胃がん細胞株において脱メチル化により強発現を認める遺伝子をマイクロアレイ解析により得られた遺伝子リストから選抜した。そのうち MSX2 と ELK1 について胃切除標本を用いた RT-PCR および免疫組織染色による発現解析を行った結果、これらの遺伝子は正常胃粘膜においてはほとんど発現を認めないが、胃がん細胞において発現を認めることを見出した。さらに胃がん細胞株への MSX2 および ELK1 の siRNA 導入実験により、強い増殖抑制効果を認めた。またシクロパミン処理した胃がん細胞株において MSX2 および ELK1 の発現低下を認めた。これらの結果は MSX2 と ELK1 がヘッジホッグ経路の下流に位置し、がんに特異的な遺伝子として治療の標的となりうる可能性を示唆している。

最後に未分化型胃癌におけるヘッジホッグ経路と EMT 経路の生物学的意義について検討するため、マトリゲル浸潤検査を行った結果、SIP1 の siRNA によるノックダウン実験により胃がん細胞株の浸潤能が抑制された。

#### <考察>

これらの結果は一般的に癌細胞が間葉系細胞の性質を獲得し、EMT が起こることで浸潤・転移をきたすという概念とは異なり、もともと正常の胃小窩部上皮はある種の間葉の性質を有しており、胃小窩部上皮を発生母地とするとされる未分化型胃癌の発生・進展過程においても保持されていることを示唆する。またこの胃小窩部上皮において発現を認める間葉系遺伝子群は EMT regulator により調節を受けるが、そのさらに上流にヘッジホッグ経路が位置し、EMT regulator の SIP1 を介してその発現が制御されている可能性が示唆された。

またさらに、ヘッジホッグ経路の下流に未分化型胃がん固有に発現上昇を認める転写因子 MSX2 および ELK1 を同定した。これらの遺伝子は胃がんにおいてヘッジホッグ経路を阻害する治療法のターゲット候補であり、脱メチル化によりがん固有に発現を認める遺伝子である可能性が示唆された。

以上の結果はスキルス胃癌の発生・進展過程において、ヘッジホッグ経路が EMT やがん固有の遺伝子を制御することにより重要な役割を果たしていることを示唆するものであり、これらのシグナル伝達経路を阻害することによりスキルス胃癌の治療につながる可能性があると考えられた。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	588	氏名	太田裕之
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>スキルス胃癌の進展におけるヘッジホッグ経路と Epithelial-mesenchymal transition (EMT) の役割およびクロストークについて検討するため、胃切除標本やマウス胃培養細胞、胃がん細胞株を用いて実験を行った。</p> <p>一連の実験結果は、一般的に癌細胞が間葉系細胞の性質を獲得し、EMT が起こることで浸潤・転移をきたすという概念とは異なり、もともと正常の胃小窩部上皮はある種の間葉の性質を有しており、胃小窩部上皮を発生母地とするとされる未分化型胃癌の発生・進展過程においても保持されていることを示唆するものであった。</p> <p>またさらに、ヘッジホッグ経路の下流にスキルス胃がん固有に発現上昇を認める転写因子 MSX2 および ELK1 を同定した。</p> <p>本研究はスキルス胃癌の進展におけるヘッジホッグ経路と EMT の関与について証明し、新たな治療法の開発に対する知見を示したものと考えられ、博士(医学)の授与に値するものと認められた。</p>			
(平成 27 年 2 月 20 日)			