

米村 敦子 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Mesothelial cells with mesenchymal features enhance peritoneal dissemination by forming a protumorigenic microenvironment
(間葉系の特徴を有する中皮細胞は腫瘍促進性の微小環境を形成することで腹膜播種を進展する)

腹膜播種を伴うがん性腹水中には癌細胞だけでなく、様々な細胞や生理活性物質が含まれている。しかし、がん性腹水中で腫瘍微小環境がどのように形成されているかは依然として解明されていない。そこで本研究ではがん性腹水中の細胞をシングルセルレベルで解析、さらに網羅的なプロテオーム解析を行うことにより、非癌細胞の腹膜播種進展における役割の解明を目的とした。一細胞レベルでのタンパク質発現を解析できるマスサイトメリーの技術を用いて、胃癌がん性腹水中の細胞集団のマーカー発現を確認し詳細な細胞分画解析を行った。また腹水の上清を用いた網羅的なプロテオーム解析により、がん性腹水中に特異的に含まれる分子を同定し、機能解析を進めた。

結果、マスサイトメリーによる細胞分画解析から胃癌がん性腹水中では免疫抑制性の微小環境が形成されていることが明らかになった。癌細胞の割合と正の相関を示した CD45(-)/EpCAM(-)分画を詳細に解析したところ 5 つの亜集団を同定した。CD45(-)/EpCAM(-)分画の中でも間葉系の特徴を有する中皮細胞は immunosuppressive myeloid cell (IMC)の動員に関与するケモカインを産生していることを確認した。さらに遺伝子発現解析及び細胞間コミュニケーション解析の結果から、間葉系の特徴を有する中皮細胞は tenascin C (TNC)などの細胞外マトリックス関連遺伝子を高発現しており、主に TNC シグナルを通して癌細胞と相互作用していることが明らかになった。実際に Tnc ノックアウトマウスを用いて腹膜播種モデルを作製したところ、野生型マウスと比較して Tnc ノックアウトマウスでは腫瘍形成および腹水の減少を認めた。

審査では、1) 癌性腹水中の中皮細胞の特徴について、2) TNC に注目した理由、3) TNC バリエーションと Syndecan-1 (SDC-1)との相互作用、4) Cell Chat 分析について、得られた結果の確認試験、5) マスサイトメリーの方法とその意義、6) Diffuse type 胃癌の特徴、7) Cdh1 KO GAN-KP cell を樹立した理由、8) プロテオーム解析で同定されたタンパク質の種類・数、9) TNC-SDC-1 の関連性及び下流シグナルについて、10) 樹立した中皮細胞において MMT 誘導するメカニズム、11) がん性腹水中の CD45(-)/EpCAM(-)細胞クラスター 2 のみに注目した理由、12) MMT 誘導中皮細胞により GC-Spheroid が増大した要因、13) GAN-KPCS と TNC-KO マウスの実験で、SDC1 と TNC をダブル KO した理由、14) Treg など他の免疫担当細胞に注目しなかった理由、15) 免疫チェックポイント阻害含めた今後の治療戦略、などについて多くの質問がなされ、申請者からは概ね適切な回答や考察が得られた。

本研究は、間葉系の特徴を有する中皮細胞は IMC の集積に関与するケモカインの産生や、癌細胞の腹膜への接着・コロニー形成を促進する TNC の産生を通して腫瘍促進性の微小環境を形成し、腹膜播種の進展メカニズムを明らかにした点で、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 消化器内科学担当教授

田中 靖人