

内原 智幸 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Extracellular Vesicles from Cancer-Associated Fibroblasts Containing Annexin A6 Induces
FAK-YAP Activation by Stabilizing β 1 Integrin, Enhancing Drug Resistance

(Cancer associated fibroblasts 由来細胞外小胞中の AnnexinA6 は β 1 integrin-FAK-YAP

シグナルを介した抗がん剤抵抗性を促進する)

腫瘍間質において癌関連線維芽細胞 (Cancer associated fibroblast: CAFs)が分泌する液性因子ががん細胞の抗がん剤感受性を制御することが示唆されてきたが、その詳細な分子機構は明らかではない。また、CAFs 由来の細胞外小胞 (Extracellular vesicles: EVs)はがんの進展に寄与することが報告されている。今回、CAF-EVsによって引き起こされる胃がんの抗がん剤抵抗性獲得メカニズムを明らかにすることを目的とした。

方法: 胃がん切除検体を用いて、CAFs マーカーである α SMA の免疫染色・定量化を行い、予後との関連性を評価した。CAFs の conditioned medium (CM)および CAF-CM から抽出した EVsを用いて胃がん細胞を培養した。CAF-CM および CAF-EVs 刺激による胃がん細胞の遺伝子発現変化、抗がん剤感受性について in vitro, in vivo で検討した。さらに CAF 由来 EVs を用いたタンパク質の質量分析を行った。

結果: がん切除標本において、腫瘍間質に CAFs が多い症例は有意に予後不良であった。In vitro の検討では、細胞外マトリックス存在下において CAF-CM 中で培養した胃がん細胞は、Network formation を起こし、顕著な抗がん剤抵抗性を獲得した。次に CAF-CM 中で培養した胃がん細胞の RNA sequencing による解析の結果、細胞外マトリックス(Extracellular matrix: ECM)に関与するシグナルが Network formation に重要であり、抗がん剤抵抗性に関与する可能性が示唆された。CAF-CM から精製した EVsを加えた胃がん細胞も同様に Network formation を引き起こし、また、EVs の質量分析の結果、CAF-EVs 由来タンパク質のうち、AnnexinA6 が今回の現象に最も強く関わっていた。CAF-EVsを加えた胃がん細胞では Integrin signalに関わる遺伝子群の発現が有意に亢進した。CAF-EVs を介して胃がん細胞に取り込まれた AnnexinA6 は Integrin β 1を細胞膜上に安定化させ、細胞外マトリックスとの相互作用を介した FAK-YAP シグナル活性化により抗がん剤への抵抗性を示した。また、腹膜播種モデルマウスを用いた検証において、CAF-EVs が促進する FAK-YAP シグナルが抗がん剤抵抗性獲得に関わり、FAK または YAP の阻害が抗がん剤抵抗性を減弱させることを明らかにした。

審査では、1) 進行・再発胃癌に対する1次、2次、3次化学療法的作用機序、2) ECM 存在下で培養した胃癌細胞が Network formation を生じる機序、3) Annexin A6 の癌での役割・機能、4) Annexin A6 の発現制御機構、5) Network formation と抗がん剤耐性及び腹膜播種との関連性、6) CAF はヘテロな集団であり、良い CAF、悪い CAF がある、7) Western Blot では YAP 量を測定しているか? YAP 阻害剤は何を用いたか? 8) 胃癌の Driver gene について、9) 免疫チェックポイント阻害剤との併用の可能性及び効果予測など各審査員より5-10個の質問がなされ、今回の報告に関する質問に対して、概ね適切な回答が得られた。

本研究は、CAF-EVs 中の AnnexinA6 が胃がん細胞の Integrin signalを活性化し、抗がん剤抵抗性を示すという新しい分子機構を明らかにした点は重要であり、胃がんにおいて AnnexinA6 や CAFs をターゲットにした新たな創薬開発が期待される研究で、博士の学位授与に値すると評価した。

審査委員長 消化器内科学担当教授

田中靖人