

2020年12月23日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

びまん性胃がんの発生メカニズムを解明

—2種類の細胞が混在する難治性がんに対する標的治療開発に期待—

慶應義塾大学医学部坂口光洋記念講座（オルガノイド医学）の佐藤俊朗教授、杉本真也助教、同内科学（消化器）教室の戸ヶ崎和博助教、金井隆典教授らの研究グループは、悪性度が高く、胃粘膜の表面に現れずに広がっていく胃がんで「スキルス胃がん」の別名で呼ばれることもある、びまん性胃がんの一種「印環細胞がん」が形成される過程を患者由来のオルガノイド（注1）を用いることにより初めて明らかにしました。

胃がんの中でも特に悪性度の高いびまん性胃がんは、「印環細胞がん」と「低分化腺がん」という2種類のがん細胞で構成されている場合が多く、特定のがん細胞だけを狙い撃ちする標的治療が効かないがんとして恐れられてきました。びまん性胃がんがなぜこのように異なる種類の細胞から形成されているのか、そのメカニズムは不明でした。

今回、研究チームはびまん性胃がん患者のがん細胞をオルガノイドと呼ばれる技術で培養し、低分化腺がんがこれまで別個のがんだと考えられていた印環細胞がんへと周囲の環境に応じて変化することを実証しました。さらに研究チームは、遺伝子編集と独自の培養技術で正常な胃の細胞を印環細胞がんへと変化させることにも成功しました。

本研究は、遺伝子変異と腫瘍周囲の環境に応じてどのように印環細胞がんが形成されるのかについて初めて明らかにしたものであり、今後胃がん根治を目指した新たな治療開発の足掛かりとなることが期待されます。

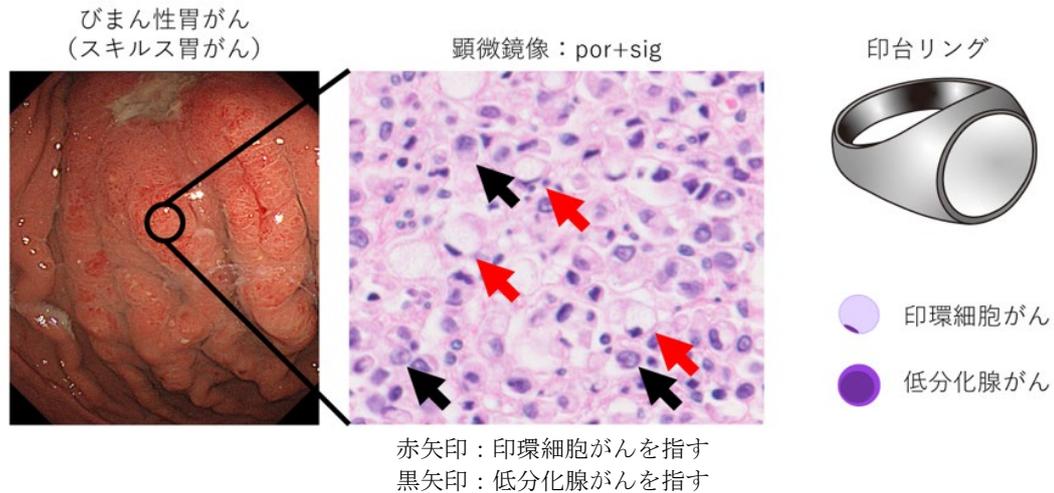
この研究成果は、2020年11月16日（米国東部時間）に米科学誌『Gastroenterology』のオンライン版に掲載されました。

1. 研究の背景と概要

胃がんはアジアで多いがんであり、日本では肺がん、大腸がんに次ぎ、死亡数の多いがんです（厚生労働省 2019年人口動態統計の概況）。胃がんの中でも、びまん性胃がんは、別名「スキルス胃がん」と呼ばれることもあり、早期発見が困難で増殖浸潤が速いため、治療成績が著しく悪い難治がんと言われています。「スキルス胃がん」は20代などの若年齢、さらに女性に多く発症することが知られている疾患ですが、その発症原因は不明で診断時には既にかなり進行していることが多く、有効な治療法が確立されていません。

本研究で着目した印環細胞がんは、このびまん性胃がんの一種である、特殊なタイプの胃がんです。顕微鏡で観察すると、粘液の溜まった巨大な小胞が細胞核を細胞の縁に押し出しているため、がん細胞が印環（印台リング）のように見えることから「印環細胞がん」と呼ば

れています。印環細胞がんは、低分化腺がんと呼ばれるがん細胞と頻りに混在してびまん性胃がんを形成し、日本では組織学的に por/sig と表記されます (図 1)。



【図 1】 びまん性胃がんの内視鏡像と顕微鏡像

どのようにして印環細胞がんと低分化腺がんの二つの細胞が混在したがんが形成されるのか、そのメカニズムはこれまでわかっていませんでした。それぞれが異なる遺伝子変異によって生じるとされる研究結果も報告されています (Kwon CH, et al. *Histopathology* 2018)。がんの治療開発では、正常な細胞には効果を及ぼさず、特定のがん細胞のみを攻撃するような、「標的治療」がキーテーマとなっています。印環細胞がんと低分化腺がんのように、複数の細胞が腫瘍内で混在するという事は、特定の細胞のみを狙い撃ちする標的治療の障害となりえます。

印環細胞がんの成り立ちを突き止めるためには、患者の検体を観察・解析するだけでは不十分であり、がん細胞が発生する様子を直接調べる必要があります。しかしながら、従来の技術では印環細胞がんを培養して成り立ちを検証することは困難でした。

研究グループは、先行研究で開発したオルガノイド培養技術 (Sato T, et al. *Nature* 2009, Sato T, et al. *Gastroenterology* 2011) を用い、胃がん細胞を立体的なミニチュア臓器としてシャーレの上で培養することに成功しました。

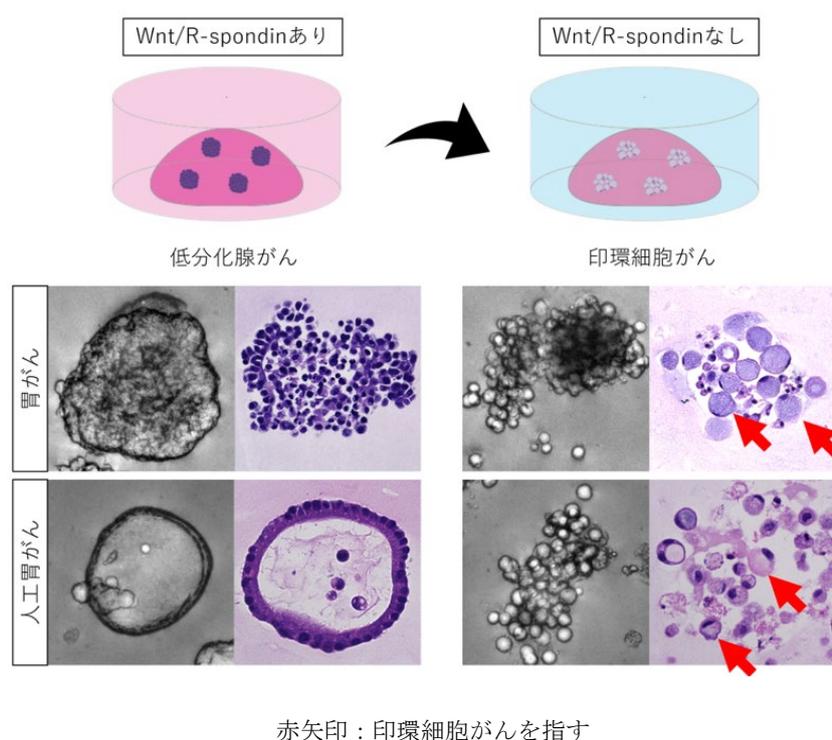
正常の胃組織は、自身の複製と胃のさまざまな細胞への分化ができる幹細胞 (注 2) と、幹細胞から分化して生まれる粘液分泌細胞や胃酸分泌細胞といったそれぞれ異なる機能と異なる形態を持つ分化細胞で構成されています。幹細胞が自身を複製し増殖するには、「Wnt」と「R-spondin」という 2 種類の増殖因子が胃細胞を未分化な幹細胞に留めておく役割を担っており、周囲に Wnt と R-spondin がない状態では胃細胞は粘液分泌細胞などの成熟した細胞に分化していきます。胃細胞をオルガノイドとして培養し続けるためには、この Wnt と R-spondin が必須であることがわかっています。

本研究は、印環細胞がんの発生メカニズムを突き止めることで、標的治療開発の突破口を見出すことを目的とし、オルガノイド培養技術を用いて、印環細胞がんの成り立ちを検証しました。

2. 研究の成果と意義・今後の展開

研究チームは、印環細胞がんと低分化腺がんが混在したびまん性胃がんの患者検体から7例のオルガノイドを作成し、培養液中でがん細胞が増殖する様子を詳細に調べました。先に述べたように、正常胃オルガノイドを培養し続けるためには **Wnt** と **R-spondin** という増殖因子が必要であり、**Wnt** と **R-spondin** がないとオルガノイドは分化細胞となって増殖を止めてしまいます。

びまん性胃がんのオルガノイドは、**Wnt** と **R-spondin** を加えた培地で培養すると、低分化腺がんの形態をとり活発に増殖します。しかし、培養液を **Wnt** と **R-spondin** が除かれたものに変えると、印環細胞がんへと形態変化を起こしました。つまり、これまで別種と考えられてきた2種類のがん細胞が、実は腫瘍周囲の環境に応じて変化したものであることを見出したのです(図2上段)。



【図2】 びまん性胃がんオルガノイドの形態変化

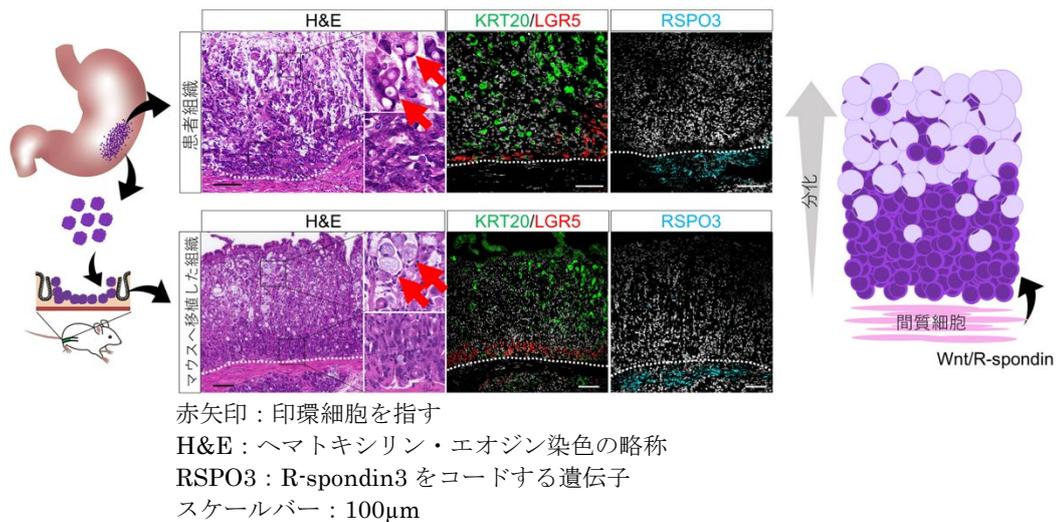
さらに研究チームは、正常な胃細胞に人工的に遺伝子変異を導入することで、印環細胞がんという特殊な形態には **E-カドヘリン** 遺伝子(注3)と呼ばれる遺伝子が関与することを見出しました。**E-カドヘリン** 遺伝子変異はびまん性胃がんの特徴的な遺伝子変異として知られていることからこの遺伝子に着目し、**CRISPR-Cas9** と呼ばれるゲノム編集技術を用いて正常な胃細胞に遺伝子変異を導入することで、人工胃がん細胞を作製しました。

この人工胃がん細胞を **Wnt** と **R-spondin** が除かれた溶液で培養すると、印環細胞がんの形態をとることがわかり、印環細胞がんは **E-カドヘリン** 遺伝子変異した胃細胞が **Wnt** と **R-spondin** のない状態で育った結果であるという因果関係が証明されました(図2下段)。

また、**Wnt** と **R-spondin** が除かれた溶液で培養したびまん性胃がん細胞では、除かない場合と比較して、胃の未分化な細胞に特徴的な遺伝子である **LGR5** の発現が低下し、分化細胞に特徴的な遺伝子である **KRT20** の発現が上昇していました。さらに、培養細胞の採取元で

あるびまん性胃癌患者の臨床検体を観察すると、LGR5 遺伝子は低分化腺がんのエリアに、KRT20 遺伝子は印環細胞がんのエリアに特異的に発現していることが確認されました（図 3 上段）。また低分化腺がんの付近には R-spondin3 を発現する間質細胞が存在し、ここから供給を受けている事が示唆されました。

最後に、研究チームは、先行研究で報告した、マウス大腸への移植技術 (Sugimoto S, et al. Cell Stem Cell 2018) を応用し、びまん性胃癌のオルガノイドをマウスに移植することによって、印環細胞がんを再現しました。Wnt と R-spondin が存在することが知られている大腸及び胃壁にオルガノイドを移植したところ、患者検体で見られるような低分化腺がんと印環細胞がんが混在したびまん性胃癌が得られました。詳細な組織解析から、R-spondin を発現する間質細胞の周囲に LGR5 を発現する低分化腺がんを認め、離れたところに KRT20 陽性の印環細胞がんが認められました（図 3 下段）。



【図 3】 びまん性胃癌の患者組織および移植組織の解析

このことから、びまん性胃癌に低分化腺がんと印環細胞がんが混在するのは、周囲の間質細胞由来の Wnt と R-spondin の供給の有無による分化状態の差異を反映していることがわかりました。

本研究により、印環細胞がんにおける遺伝子変異と腫瘍周囲の環境がどのように生物学的表現型を形成するかが初めて明らかになり、胃癌治療の新しい足掛かりとなることが期待されます。

3. 特記事項

本研究は、JSPS 科研費 JP17H06176、JP20J12287、および公益財団法人武田科学振興財団の支援によって行われました。

4. 論文

英文タイトル：Wnt Signaling Shapes the Histological Variation in Diffuse Gastric Cancer

タイトル和訳：Wnt シグナルにより制御される、びまん性胃癌の腫瘍内不均一性

著者名：戸ヶ崎和博、杉本真也、太田悠木、南木康作、股野麻未、高橋シリラット、藤井正幸、金井隆典、佐藤俊朗

掲載紙：Gastroenterology (オンライン版)

DOI：10.1053/j.gastro.2020.10.047

【用語解説】

(注1) オルガノイド：従来の培養技術は細胞を二次元のシート状に培養する。オルガノイドは、細胞を増殖の足場となるジェルの上で増殖因子と呼ばれる細胞を育てるいくつかのスイッチとなるタンパク質を加えることにより、立体的な細胞塊を形成するように培養する。胃、小腸、大腸、膵臓、肝臓などのさまざまな組織の正常およびがん細胞を、生体内での構造を維持したまま無限に培養することが可能である。本研究では、2つの細胞増殖因子である Wnt と R-spondin が登場する。これらは同一の増殖シグナル伝達経路に作用し、R-spondin は Wnt の作用をサポートする役割があると考えられている。

(注2) 幹細胞：自己複製能とさまざまな細胞に分化する能力（多分化能）を持つ細胞であり、発生や組織の再生などを担う細胞であると考えられている。ここでは、iPS 細胞などの多能性幹細胞ではなく、成体の特定の組織の細胞にしか分化しない組織幹細胞を指す。

(注3) E-カドヘリン：細胞の表面に発現し、近接した細胞を接着させて、正常組織構造を維持する役割を持つ細胞間接着分子の一つ。E-カドヘリンは浸潤抑制タンパク質とされ、欠損すると腫瘍の浸潤性が高まると考えられている。遺伝性びまん性胃がんの原因遺伝子であり、E-カドヘリン遺伝子の変異を生まれつき有する患者は、大部分が40歳以前に胃がんを発症し、80歳までの胃がんの累積リスクは80%と推定されている。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 坂口光洋記念講座（オルガノイド医学）

教授 佐藤 俊朗（さとう としろう）

TEL：03-5363-3063 FAX：03-3353-6247

E-mail：t.sato”AT”keio.jp ※E-mail アドレスは AT の部分を@に変えてください

<https://organoidmed.org>

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課：山崎・飯塚

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

TEL：03-5363-3611 FAX：03-5363-3612 E-mail：med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp>

※本リリースのカラー版をご希望の方は【本リリースの配信元】までご連絡ください。