

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	オルガノイドを用いた胃がん幹細胞の可視化と効果的な治療法の探索				
研究テーマ (欧文) AZ	Visualization of gastric cancer stem cells and establishment of effective therapeutics for gastric cancer with organoid culture systems				
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	ムラカミ	カズヒロ	研究期間 B	2017 ~ 2019 年
	漢字 CB	村上	和弘	報告年度 YR	2019 年
	ローマ字 CZ	Murakami	Kazuhiro	研究機関名	金沢大学 がん進展制御研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名	国立大学法人 金沢大学 がん進展制御研究所・助教				
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 本研究においては、胃特異的に炎症と Wnt シグナルの亢進を引き起こす胃がんマウスモデルと、上皮幹細胞マーカーである Lgr5 遺伝子の遺伝子座に EGFP 遺伝子が挿入された Lgr5-EGFP マウスを掛け合わせ、得られたマウスより体外組織様構造体(オルガノイド)を樹立した。 一方、患者より摘出した胃がん組織よりヒト胃がんオルガノイドを樹立し、CRISPR/Cas9 遺伝子編集技術を用いて LGR5 遺伝子座の下流に EGFP 遺伝子を挿入した。これらの操作により各オルガノイドにおいて LGR5 陽性細胞を標識し、Fluorescence Activated Cell Sorting を用いて、各オルガノイドより LGR5-EGFP 陽性幹細胞を回収した。さらに細胞生物学的な解析により、LGR5-EGFP 陽性細胞ががん幹細胞である可能性を検証した。 LGR5 陽性胃がん細胞で高発現する遺伝子群と The Cancer Genome Atlas より抽出したヒト胃がんが発現異常の見える遺伝子群を比較し、胃がん幹細胞の増殖・分化に必須な遺伝子候補を抽出した。次に、これらの候補遺伝子を、マウス・ヒトの胃がんオルガノイドで強制発現およびノックアウトし、候補遺伝子が LGR5 陽性胃がん細胞の増殖能や分化能を制御する機構の詳細を明らかにすることを試みた。 明らかになった LGR5 陽性胃がん細胞の分化・増殖性を制御する遺伝子をヒト胃がんオルガノイドで欠損させ、免疫不全マウスの胃壁または脾臓に移植した。がん組織の増殖と他臓器への転移頻度を指標に、いくつかの候補遺伝子がマウス生体内においてがん細胞の増殖能・転移能を制御していることを確認した。さらに、これらの移植マウスを用いてがん組織全体を標的とする効果的な抗がん剤の探索を行った。					
キーワード FA	がん幹細胞	胃がん	オルガノイド	LGR5	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

In this study, we made a new gastric tumor mouse model by crossing Wnt/inflammation-dependent gastric tumor mice and LGR5DTR-EGFP mice. In Lgr5DTR-EGFP mice, the EGFP gene is inserted into the Lgr5 gene locus to visualize endogenous Lgr5 expression, an epithelial stem cell marker. Also, we established organoids from those mice.

On the other hand, we established human gastric tumor organoids from patients and inserted the EGFP gene at the end of LGR5 exon18 by using the CRISPR/Cas9 genome editing technique. We labeled endogenous human LGR5 gene expression and sorted Lgr5+ cells from those organoids. Furthermore, by cell biological analyses, we examined whether LGR5-EGFP+ cells are cancer-initiating cells or not.

Then, we analyzed The Cancer Genome Atlas data base and listed genes which show aberrant expression in gastric cancer and compared those genes with dis-regulated genes in our LGR5+ gastric tumor cells. We extracted genes which may necessary for the proliferation and differentiation of LGR5+ tumor cells. And we over-expressed or knocked-out those candidates in mouse and human gastric tumor organoids and tried to reveal a mechanism how those genes regulate the proliferation and/or differentiation of tumor cells.

Then, we knocked-out promising genes which regulate the proliferation and differentiation of tumor cells in human gastric cancer organoids and transplanted those organoids into stomach or spleen of immune deficient mice. As a result, we confirmed that some genes regulate the proliferation and differentiation of tumor cells *in vivo*. Furthermore, using those mice, we searched for potential therapeutic drugs which can eliminate all gastric tumor tissues.