

京都大学	博士 (医学)	氏 名	荒木 理
論文題目	Brg1 controls stemness and metastasis of pancreatic cancer through regulating hypoxia pathway (Brg1 は hypoxia pathway を介して膵癌細胞の幹細胞性・転移を制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>クロマチンリモデリング因子 Brg1 は膵癌の前癌病変である PanIN と PanIN 由来膵癌の形成に重要な働きをすることがこれまでに報告されている。本研究では、膵癌形成後における Brg1 の役割を解明することを目的とした。</p> <p>dual recombinase system を活用した膵癌マウスモデルを用いて、膵癌形成後に Brg1 をノックアウト (KO) したところ、膵癌の増大が有意に抑制されることが示された。その機序を解明するため、このマウス膵癌組織の免疫染色や、マウス膵癌細胞の 2 次元培養による解析を行った結果、Brg1 は膵癌細胞の増殖・アポトーシス抑制に重要な働きをすることが示された。</p> <p>さらに、膵癌の転移における Brg1 の役割を明らかにするため、脾注モデルの解析を行った結果、Brg1 KO 膵癌細胞を脾注したマウスでは、転移巣の形成が著明に抑制された。bioluminescence imaging を使用した経時的な評価により、Brg1 を KO した膵癌細胞は一旦肝臓に生着するが、アポトーシスにより徐々に消失することが判明した。さらに、in vitro の実験により、Brg1 は幹細胞性の維持に必要であることが示された。</p> <p>Brg1 が増殖能や幹細胞性、転移に重要な働きをするメカニズムを調べるため、Brg1 KO 膵癌細胞の網羅的遺伝子発現解析を行い、さらに Brg1 が直接発現制御する pathway を探るため、Brg1 の結合する遺伝子を ChIP-seq により網羅的に検索し、遺伝子発現解析の結果と統合することで、Brg1 が直接制御する遺伝子群を解析した。その結果、hypoxia pathway を含む複数のパスウェイが Brg1 により直接発現制御されていることが示された。</p> <p>さらに、ChIP 解析の結果、Brg1 は HIF-1α の標的遺伝子に結合することで、hypoxia pathway の発現を直接制御していることが判明した。さらに、マウス膵癌細胞で HIF-1α 発現を抑制したところ、増殖は抑制されなかったが、幹細胞性および転移能が抑制され、部分的ではあるが Brg1 KO を模した結果であったことから、Brg1 が幹細胞性および転移能に重要な働きをする機序として、一部は hypoxia pathway の発現制御を介していることと結論した。</p> <p>最後に、ヒト膵癌細胞における BRG1 の機能を評価した。ヒト膵癌細胞において、BRG1 発現を shRNA で抑制、あるいは CRISPR-Cas9 で Brg1 KO した結果、マウス膵癌細胞と同様に、増殖能・幹細胞性が低下し、その程度については、BRG1 の発現レベルと相関することが示された。</p> <p>以上より、BRG1 は膵癌の増殖、アポトーシス抑制、幹細胞性、転移に重要な働きをし、幹細胞性と転移を制御する機序としては hypoxia pathway の発現制御を一部介していることが明らかになった。したがって、BRG1 は膵癌の新規治療標的となり得る可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>本研究では、膵癌におけるクロマチンリモデリング因子 Brg1 の役割の解明を目的とした。</p> <p>膵癌マウスモデルを用いて、膵癌形成後に Brg1 をノックアウト (KO) した結果、膵癌の増大が抑制され、さらに Brg1 が膵癌細胞の増殖促進・アポトーシス抑制に寄与していることが示された。</p> <p>マウス脾注肝転移モデルの検討では、Brg1 KO によりマウス膵癌細胞の転移巣形成が著明に抑制され、生体発光イメージングにより Brg1 KO 膵癌細胞は肝臓に生着後にアポトーシスにより消失することが判明した。in vitro の実験により、Brg1 は幹細胞性の維持に必要であることも示された。</p> <p>分子機序を調べるため、網羅的遺伝子発現解析と ChIP-seq の結果を統合し、Brg1 が直接発現制御する遺伝子として hypoxia 経路を同定した。ChIP 解析により、Brg1 は HIF-1α の標的遺伝子への結合を促進することで、HIF 標的遺伝子の発現を制御していることが判明した。さらに HIF-1α を抑制した結果、Brg1 KO 時と同様に幹細胞性、転移能が抑制され、Brg1 は、一部は hypoxia 経路の制御を介して、幹細胞性、転移能に重要であると結論した。</p> <p>ヒト膵癌細胞に対して BRG1 発現を抑制した結果、マウス膵癌細胞と同様に、増殖能・幹細胞性が低下し、その程度は BRG1 の発現レベルと相関した。</p> <p>以上の研究は膵癌の分子機序の解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 6 年 2 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>

要旨公開可能日： 年 月 日以降