



Title	Polarity switching of ovarian cancer cell clusters via SRC family kinase is involved in the peritoneal dissemination
Author(s)	河田, 真由子
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/91813
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	河田 真由子
論文題名 Title	Polarity switching of ovarian cancer cell clusters via SRC family kinase is involved in the peritoneal dissemination (Src活性化を介した癌細胞塊の極性転換と卵巣癌腹膜転移)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 卵巣癌は初期症状に乏しく多くの症例で診断時に腹膜播種病変が存在する。腹膜播種は予後に影響を及ぼすが、その発生・進展機序については不明な点が多い。近年、癌の転移には単一のがん細胞でなく癌細胞塊が重要であるとする報告が多くなされ、さらに患者由来の癌細胞塊には、癌細胞株が持たない細胞極性が存在することが明らかとなってきた。しかし、卵巣癌において細胞極性に着目した研究報告は殆どない。そこで今回、卵巣癌患者より得られた癌3次元培養オルガノイドを腹水中の卵巣癌細胞塊モデルとして用い、細胞極性の制御を介した腹膜播種の成立メカニズムについて検討を行った。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まず卵巣癌病理組織の免疫染色を行い、上皮細胞の頂側のマーカーとしてZO-1、および基底膜側のマーカーをIntegrin β 4として極性を評価したところ、主要な病理型（漿液性腺癌、類内膜腺癌、明細胞癌、粘液性腺癌）のいずれにおいても明らかな頂側-基底側極性を有していた。次に、卵巣癌患者の腹水中の細胞塊の極性を同様に評価したところ、腹水と接する外側面でZO-1、細胞塊の内側でIntegrin β 4が発現し、原発巣組織と同様に細胞極性を有することが確認された。さらに、癌3次元オルガノイド培養法であるCTOS法を用い、患者由来の卵巣癌オルガノイドを調製・培養した。培養液中に浮遊したオルガノイドの極性を評価したところ、培養液と接するオルガノイド外側でZO-1が、オルガノイド内側でIntegrin β 4が発現していた。以上のように、卵巣癌には細胞極性があり腹水中の癌細胞塊・オルガノイドのいずれにおいても同様の極性を示すことから、卵巣癌オルガノイドを「極性をもった癌細胞塊モデル」としてさらなる検討を行った。 先行研究において、大腸癌細胞塊は細胞外基質(ECM)との接触によって極性が反転することが報告されている。そこで同様の現象が卵巣癌でも起こりうるか、卵巣癌オルガノイドをECMに包埋して培養したところ、2日後にはオルガノイド内のZO-1/Integrinβ4で標識される細胞極性が反転することを認めた。また、細胞-基質接着に関与するシグナル分子であるSrcの阻害剤Dasatinibによりその極性反転が阻害された。ECMでコーティングした培養皿で浮遊状態のオルガノイドを培養すると沈降したオルガノイドは培養皿に接着するが、その接着面では極性の反転をみとめ、極性反転の進行に伴い培養皿への接着強度が増強した。一方、DasatinibによってオルガノイドとECMの接着は優位に抑制された。以上のように、浮遊状態の卵巣癌細胞塊がECMへ接着するにはSrcを活性化した極性反転が関与することが示された。さらに、重症免疫不全マウスの腹腔内に卵巣癌オルガノイドを注入し腹膜播種を形成させたところ、播種巣では細胞極性が反転していることが腹膜組織の免疫染色により確認された。さらに、この腹膜播種モデルマウスに対しDasatinibを投与したところ、腹膜播種は無治療対照群に対して有意に抑制された。 〔総 括(Conclusion)〕 卵巣癌組織、腹水中の卵巣癌細胞塊で細胞極性が存在すること、および卵巣癌細胞塊はECMへの接触によりSrc依存性に細胞極性が反転することを見出した。極性転換は卵巣癌細胞塊がECMに接着するためにも重要な現象であり、Src阻害剤によって腹膜播種を抑制できる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 河田 真由子				
論文審査担当者	(職)		氏 名	
	主 査	大阪大学教授	木 村 正	署 名
	副 査	大阪大学教授	土 岐 祐一郎	署 名
	副 査	大阪大学教授	原 田 彰 晃	署 名

論文審査の結果の要旨

卵巣癌患者の腹水中の細胞塊の極性を評価したところ、腹水と接する外側面でZO-1、細胞塊の内側でIntegrin β 4が発現した。患者由来の卵巣癌オルガノイドでも、浮遊培養下では同様の極性を有した。卵巣癌オルガノイドをECMに包埋したところ、2日後には細胞極性が反転し、Srcの阻害剤Dasatinibによりその極性反転が阻害された。ECMでコーティングした培養皿で浮遊状態のオルガノイドを培養すると沈降したオルガノイドは培養皿に接着するが、その接着面では極性の反転をみとめ、極性反転の進行に伴い培養皿への接着強度が増強した。一方、DasatinibによってオルガノイドとECMの接着は抑制された。さらに、重症免疫不全マウスの腹腔内に卵巣癌オルガノイドを注入し腹膜播種を形成させたところ、播種巣では細胞極性が反転しており、この腹膜播種モデルマウスに対しDasatinibを投与したところ、腹膜播種は無治療対照群に対して有意に抑制された。

結論
 卵巣癌細胞塊はECMへの接触によりSrc依存性に細胞極性が反転することを見出し、Src阻害剤によって腹膜播種を抑制できる可能性が示唆された。

以上の研究内容は、博士(医学)の学位に値するものと認める。