

【目的】 本研究では印環細胞型胃癌でみられる著明な線維化、いわゆるスキルス性形成のメカニズムにおいて、血管内皮細胞の異常活性化によって誘導される機構をオミクス解析により解析し、新規治療標的を提示することを目的とした。

【方法】 スキルス胃癌マウスモデルとして、独自に樹立した *Tff1*-Cre; *LSL-p53*^{R172H}; *Tgfb* r2^{F/F}; *Cdh1*^{F/F} (T1-PTC) マウスを用いた。腫瘍免疫微小環境の解析を行うため、マウス胃腫瘍組織を用いて FACS を施行し、血管内皮細胞・線維芽細胞を選択的に回収し、各々の RNA シークエンスを施行した。具体的には、先行実験により T1-PTC マウス胃腫瘍細胞で *Lrg1* 遺伝子が高発現していることが判明しており、*Lrg1* により誘導される CD105 陽性血管内皮細胞と CD105 陰性血管内皮細胞における遺伝子発現の差異を比較した。また、粘膜内の印環細胞癌を発症するものの浸潤傾向を示さず、長期生存が可能である *Tff1*-Cre; *LSL-p53*^{R172H}; *Cdh1*^{F/F} (T1-PC) マウスと T1-PTC マウスにおける線維芽細胞の遺伝子発現の差異も比較した。さらに、先行実験により T1-PTC マウスに対する新規治療標的候補として CD38 を特定しており、CD38 特異的抗体による治療を行ったマウス胃腫瘍組織からも FACS を用いて線維芽細胞を回収し、治療前後の RNA 発現を比較した。加えて、WT・PC・PTC 変異胃オルガノイドを樹立し、3 種についてリン酸化プロテオーム解析を行い、PTC 腫瘍オルガノイドに特異的な活性化 pathway を検索した。

【結果】 T1-PTC マウス胃腫瘍内の CD105 陽性血管内皮細胞と CD105 陰性血管内皮細胞の遺伝子発現の差異を比較した結果、CD105 陽性血管内皮細胞においては *Myc*・*Tgf-β* シグナル関連遺伝子群の高発現を認め、また血管新生亢進に関連する遺伝子群の高発現が確認された。さらに *CSF3*・*MADCAM1*・*SELP* といった白血球遊走に関連する遺伝子の上昇を認め、CD105 陽性血管内皮細胞による血管新生のポジティブフィードバック機構や白血球遊走亢進による炎症誘導機序の存在が示唆された。次に線維芽細胞について解析を行ったところ、T1-PTC マウスの胃腫瘍内線維芽細胞は T1-PC マウスの線維芽細胞に比し、ケモカインを中心としたサイトカイン関連遺伝子が高発現しており、T1-PTC マウスにおいては CD105 陽性血管内皮細胞と線維芽細胞は協調して白血球遊走と炎症を誘導し、腫瘍優位の腫瘍免疫微小環境を形成していると考えられた。さらに、CD38 特異的抗体による治療を行った T1-PTC マウスの胃腫瘍組織内線維芽細胞においては、白血球遊走関連遺伝子群の高発現が一部キャンセルされていたことから、CD38 は血管内皮細胞を誘導するのみならず、スキルス胃癌においては線維芽細胞による炎症の誘導にも関連する可能性があり、CD38 を抑制することで腫瘍免疫微小環境全体の形成機序を抑制しうる可能性が示唆された。一方、胃腫瘍オルガノイドのリン酸化プロテオーム解析の結果、PTC 腫瘍オルガノイドにおいて PAK 蛋白のリン酸化が亢進していた。そこで PTC 胃腫瘍オルガノイドに *in vitro* で PAK 阻害剤の投与を行ったところ、腫瘍オルガノイドで高発現している CD38 を抑制した。したがって、PAK 阻害剤はスキルス胃癌における血管内皮細胞誘導機序を抑制する可能性があり、新規治療薬候補として考えられた。

腫瘍細胞のプロテオーム解析と内皮細胞・線維芽細胞の RNA シークエンスによる腫瘍免疫微小環境解析

