



TITLE:

Context-Dependent Roles of Hes1 in the Adult Pancreas and Pancreatic Tumor Formation(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Marui, Saiko

CITATION:

Marui, Saiko. Context-Dependent Roles of Hes1 in the Adult Pancreas and Pancreatic Tumor Formation. 京都大学, 2023, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2023-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k24523>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏名	丸井 彩子
論文題目	Context-dependent roles of Hes1 in the adult pancreas and pancreatic tumor formation (成熟膵および膵腫瘍形成において Hes1 は状況依存性の役割を果たす)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>Hairy and enhancer of split 1 (Hes1) は膵癌の前癌病変である膵上皮内腫瘍性病変 (PanIN) 形成において重要な役割を果たすことが示されているが、その進展、および膵癌においてどのような役割を担っているかは不明である。また、膵発生において HES1 は胎生期に幹細胞や前駆細胞に発現し、細胞の維持や運命決定に重要な役割を果たすと考えられているものの、成体膵における役割は十分に解明されていない。</p> <p>そこで本研究では、Flippase-FRT system と CreERT2-loxP system の二種類の遺伝子組み換えシステムを有し、タモキシフェン誘導下に任意の時期で Hes1 遺伝子を欠損させることが可能なマウスモデルを用い、膵腫瘍および成体膵における Hes1 の役割の解明を目的とした。</p> <p>まず、成体膵における Hes1 の役割の解明のため、成体膵特異的に Hes1 遺伝子欠損が可能な Pdx1-Flp;FSF-R26^{CAG-CreERT2};Hes1^{flx/flx} マウスを作成した。6 か月間の観察において、Hes1 欠損により膵に形態学的な差異は生じなかった。一方、急性膵炎下では、Hes1 欠損により膵萎縮が生じた。既報および他のマウスモデルを用いた実験で膵管細胞および膵管細胞で Hes1 を欠損させても膵萎縮が生じなかったことから、膵管細胞における Hes1 が急性膵炎時の膵再生に影響していることが示唆された。膵管細胞を単離し、オルガノイド形成能を評価したところ、Hes1 欠損により形成能は低下した。これらの結果より、膵炎時の再生に膵管細胞の Hes1 が重要な役割を果たしている可能性が示された。</p> <p>次に、膵腫瘍形成における Hes1 の役割を明らかにするために、PanIN マウスモデル (Pdx1-Flp;FSF-R26^{CAG-CreERT2};FSF-Kras^{G12D};Hes1^{flx/flx}) を作成し、PanIN 形成前後で Hes1 遺伝子を欠損させ評価した。PanIN 形成前に Hes1 遺伝子を欠損させると腫瘍が減少したのに対し、PanIN 形成後に欠損させると腫瘍が増加した。すなわち腫瘍形成の phase で Hes1 の果たす役割が異なると考えられた。</p> <p>さらに、膵癌マウスモデル (Pdx1-Flp;FSF-R26^{CAG-CreERT2};FSF-Kras^{G12D};Trp53^{flx/flx};Hes1^{flx/flx}) を作成した。膵癌形成後に Hes1 遺伝子を欠損させたところ、膵癌の増悪を認めた。同マウスモデルの膵癌から Hes1 遺伝子野生型・欠損型の細胞株を作成し、その性質を評価したところ、Hes1 欠損群で浸潤能の亢進を認めた。Hes1 遺伝子の欠損が膵癌形成において腫瘍促進的に働くメカニズムの解明を図るため、RNA シーケンスを施行したところ、Hes1 欠損群で Muc5ac の発現の上昇を認めた。</p> <p>さらにクロマチン免疫沈降アッセイにより、HES1 が Muc5ac のプロモーター領域に結合していることが明らかとなり、Hes1 が Muc5ac を直接抑制していることが示された。Hes1 遺伝子欠損膵癌細胞株で Muc5ac をノックダウンしたところ、浸潤能の亢進が打ち消され、Hes1 の膵癌に対する作用の一部は Muc5ac を介していると考えられた。膵腫瘍形成の phase によって Hes1 の役割が異なる原因を探求するため、膵管細胞の初代培養を行い、RNA シーケンスを行った。膵癌の RNA シーケンスと比較したところ、Muc5ac は同様に変動しているものの、多くの変動遺伝子が異なっていた。すなわち phase によって標的遺伝子が異なり、それが役割の差につながっていることが示唆された。</p> <p>以上の結果から、Hes1 は膵炎からの再生に重要な役割を果たし、また、腫瘍形成時期により Hes1 は異なった役割を示すことが示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、**Flippase-FRT system** と **CreERT2-loxP system** の二種類の遺伝子組み換えシステムを有し、タモキシフェン誘導下に任意の時期で **Hes1** 遺伝子を欠損させることが可能なマウスモデルを用い、膵腫瘍および成体膵における **Hes1** の役割の解明を目的とした。

まず、成体膵における **Hes1** の役割の解明のため、成体膵特異的に **Hes1** 遺伝子を欠損させたところ **Hes1** 欠損により膵に形態学的な差異は生じなかった。一方、急性膵炎下では、**Hes1** 欠損により膵萎縮が生じた。既報および他のマウスモデルを用いた実験で膵管細胞および膵管細胞で **Hes1** を欠損させても膵萎縮が生じなかったことから、膵管細胞における **Hes1** が急性膵炎時の膵再生に影響していることが示唆された。膵管細胞を単離し、オルガノイド形成能を評価したところ、**Hes1** 欠損により形成能は低下した。これらの結果より、膵炎時の再生に膵管細胞の **Hes1** が重要な役割を果たしている可能性が示された。

次に、膵腫瘍形成における **Hes1** の役割を明らかにするために、**PanIN** マウスモデルを作成し、**PanIN** 形成前後で **Hes1** 遺伝子を欠損させ評価した。**PanIN** 形成前に **Hes1** 遺伝子を欠損させると腫瘍が減少したのに対し、**PanIN** 形成後に欠損させると腫瘍が増加した。すなわち腫瘍形成の phase で **Hes1** の果たす役割が異なると考えられた。

さらに、膵癌マウスモデルで膵癌形成後に **Hes1** 遺伝子を欠損させたところ、膵癌の増悪を認めた。同マウスモデルの膵癌から細胞株を作成したところ、**Hes1** 欠損群で浸潤能の亢進を認めた。RNA シーケンスにて、**Hes1** 欠損群で **Muc5ac** の発現の上昇を認めた。さらにクロマチン免疫沈降アッセイにより、**Hes1** が **Muc5ac** のプロモーター領域に結合していることが示された。膵管細胞の初代培養を行い、RNA シーケンスを行い、膵癌の RNA シーケンスと比較したところ、**Muc5ac** は同様に変動しているものの、多くの変動遺伝子が異なっていた。すなわち phase によって標的遺伝子が異なり、それが役割の差につながっていることが示唆された。

以上の結果から、**Hes1** は膵炎からの再生に重要な役割を果たし、また、腫瘍形成時期により **Hes1** は異なった役割を示すことが示された。

以上の研究は膵における **Hes1** の役割の解明に貢献し、膵癌の病態解明に寄与するところが多い。

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。

なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 3 月 1 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降