

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Characterization of cell line with dedifferentiated GIST-like features established from cecal GIST of familial GIST model mice

(家族性 GIST モデルマウスの盲腸 GIST から樹立された脱分化型 GIST 様の特徴を有する細胞株の特性)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学 専攻 生体応答制御 系

病理診断学 (指導教授 廣田 誠一)

氏 名 佐野 太亮

家族性に gastrointestinal stromal tumor (GIST) が多発し、生殖細胞レベルに *c-kit* 遺伝子変異を有する家系が存在し、これまでに約 40 家系が報告されている。現在までに、これらの家族性 GIST に対して 3 種類のノックインマウスモデルが作製され、いずれにも盲腸に GIST 相当の腫瘍の発生が確認されているが、その培養細胞株は樹立されておらず、それらの変異を有する GIST のより詳細な検索の妨げとなっている。本研究の目的は、我々が作製した、*c-kit* の exon 17 に変異を有するモデルマウスから盲腸 GIST 由来の培養細胞株を樹立し、薬剤の効果を含めた細胞株の特性を調べることである。

ホモ接合体モデルマウスの盲腸 GIST 組織から初代培養を行い、30 代以上の培養を繰り返して細胞株 (DeGISTL1 細胞) を樹立した。GeneChip を用いて遺伝子発現解析を行ったところ、DeGISTL1 細胞はマウスの各種間葉系幹細胞マーカー遺伝子や HSP90 遺伝子群の発現が高く、KEGG pathway analysis では metabolic pathway の遺伝子発現が高いことが示された。DeGISTL1 細胞は紡錘形を呈し、核小体や異常な核分裂像も目立ち、免疫染色では特徴的な分化マーカーの発現はほとんど見られず、脱分化型 GIST を思わせる像であった。DeGISTL1 細胞のグルタミン依存性を確認するために、培養液からグルタミンを除去したところ、増殖は完全に抑制され、glutaminase 1 の阻害薬である Telaglenastat を培養液中に添加したところ、濃度依存性に増殖は抑制された。DeGISTL1 細胞は Imatinib では増殖が抑制されず、GeneChip 遺伝子発現解析で高発現の見られた HSP90 遺伝子群の阻害薬である Pimipitespib は DeGISTL1 細胞の増殖を $1 \mu\text{M}$ でほぼ完全に抑制した。Telaglenastat と Pimipitespib を併用したところ、細胞増殖抑制効果は単独添加よりも増強された。

我々は、家族性 GIST モデルマウスの盲腸 GIST の初代培養から、KIT の発現を保持した、より分化した GIST の培養細胞株を樹立しようと考えていたが、実際に樹立された細胞はより分化度の低い性格を有していた。GIST では、分子標的薬使用後などに分化の低い腫瘍が出現してくることが知られており、脱分化型 GIST と命名されている。今回の研究で得られた DeGISTL1 細胞は脱分化型 GIST に相当する細胞株である可能性があり、その治療に対して Telaglenastat と Pimipitespib の併用が有効である可能性が示唆された。