

【目的】本研究では Tuft 細胞を介したシグナルが免疫系と協調しながら胃癌進展に与える影響を、オミクス解析および系譜解析実験を用いて検討し、神経 - 免疫 - 胃癌連関機構を包括的に解明するとともに、新規治療標的を提示することを目的とした。

【方法】マウス胃炎モデルとして高容量タモキシフェンモデル、IL1 β 過剰発現モデル、胃癌モデルとして *Mist1-CreERT*; *ApcF/F* モデルを用い、*Dclk1* 陽性 Tuft 細胞アブレーションを施行した *Dclk1-DTR* マウスの胃組織における免疫応答状態・遺伝子発現状態・代謝状態の比較を行った。具体的には、FACS/免疫染色による免疫細胞のプロファイリング・RNA シークエンス・メタボローム解析を行った。胃炎・胃癌発生過程において放出される神経伝達物質であり、Tuft 細胞と関連する 2 型免疫との関連が報告されている NMU の働きを解析するため、*NMU* 欠損マウスを用い、免疫・転写プロファイルと比較した。さらに、2 型免疫サイトカインを高発現する AAV ベクターの投与を用い、Tuft 細胞~2 型免疫シグナルの胃組織内免疫応答に与える影響を検討した。また、Tuft 細胞は細胞周期制御因子である p57 を高発現しており、これが自身の持続的静止期を実現している可能性を考えた。Tuft 細胞を特異的に標識できる新規遺伝子改変マウス (*Tp53*CreERT マウス) と *Rosa26* レポーターマウスを組み合わせ系譜追跡実験を行い、さらに新規に樹立した *p57^{lox}* マウスを組み合わせることで、Tuft 細胞の脱分化に及ぼす p57 の役割を検討した。

【結果】胃炎モデルである高容量タモキシフェン投与モデル・IL1 β 過剰発現モデル、さらに胃癌モデルとして *Mist1-CreERT*; *ApcF/F* モデルともに、*Dclk1-DTR* マウスによる Tuft cell ablation によって有意に上皮細胞増殖が低下した。RNA シークエンスの結果、Tuft cell 消失後にアミノ酸代謝を含む各種代謝関連遺伝子群の発現低下と、MAPK 経路関連遺伝子の発現低下が認められた。胃組織のメタボローム解析を実施した結果、*Dclk1-DTR* アブレーションによりセリン・プロリン系の代謝産物の減少が認められ、これが細胞増殖の低下を引き起こした可能性がある。胃炎モデルと組み合わせた *NMU* 欠損マウスにおいて、前癌病変である化生性病変の出現が有意に抑制された。胃内に浸潤する免疫分画のうち、Mast cell、ILC2 の減少を認め、上皮中では Tuft 細胞が減少していた。胃炎組織中の血球分画の scRNAseq の結果、Mast cell、ILC2 は 2 型サイトカインである IL33、IL13、IL4 を高発現していることがわかった。これらのサイトカインを発現する AAV ベクター投与により、胃内に化生性変化と Tuft 細胞の増生が誘導された。2 型サイトカイン発現細胞と Tuft 細胞の間には相互に活性化を誘導する機構があり、これが化生性変化の原因となっていると考えられる。最後に Tuft cell の脱分化機能の検証のために作製した *Tp53* CreERT ; *p57* F/F ; *R26-Tomato* マウスの解析により、p57 の欠損により Tuft cell が脱分化し幹細胞様機能を有するようになることが示された。炎症および腫瘍遺伝子の変異導入により Tuft 細胞中 p57 の発現が低下することも分かり、実際それらの環境下では Tuft cell が癌起源細胞としての役割も持つようになることが分かった。

神経・免疫連関による胃癌制御機構の解析

