

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 橋本 憲輝

〔題名〕

脱分化型肝細胞癌由来細胞株から誘導した癌幹細胞様Sphere細胞は抗癌剤耐性を有する

〔要旨〕

【背景】癌幹細胞は癌の治療抵抗性に重要な役割を果たしていると考えられている。我々は、特殊培地を用いてヒト肝細胞癌細胞株から癌幹細胞様細胞を誘導し、その抗癌剤耐性を解析した。【方法】ヒト肝細胞癌細胞株であるSK-HEP-1 (SK)、HLE、Hep 3B、HuH-7を用いて、neural survival factor-1を添加した幹細胞用培地にて幹細胞様細胞 (Sphere細胞) の誘導を行った。幹細胞マーカーとして *NANOG* と *LIN28A* の発現を解析した。癌幹細胞の表面マーカーである CD24 や CD44、CD44 variant、CD90 の発現をフローサイトメトリーを用いて解析した。抗癌剤耐性に関しては MTS アッセイ、細胞周期解析、活性酸素種 (ROS) 活性アッセイにより評価した。【結果】低分化型肝細胞癌由来の SK と未分化型肝細胞癌由来の HLE からは効率的に Sphere 細胞が誘導されたが、高分化型肝細胞癌由来の HuH-7、Hep 3B からは誘導されなかった。SK より誘導された Sphere 細胞 (SK-sphere) は、*NANOG*、*LIN28*、*ALDH1* の mRNA 発現が亢進していた。また、SK-sphere では CD44 variant の発現が亢進していた。数種類の抗癌剤存在下で、ソラフェニブを除き、SK-sphere は高い細胞生存率を示した。細胞周期において SK-sphere は G0/G1 期の割合の増加を示した。また、SK-sphere における *ABCG2* と *HIF1A* の mRNA 発現亢進と活性酸素種の低下が観察された。【結語】我々の新規 Sphere 細胞誘導培養法により癌幹細胞様細胞が効率よく誘導可能であり、それらは化学療法抵抗性を示した。その機序には細胞周期や薬剤排出能、活性酸素種の関与が考えられた。

作成要領

1. 要旨は、日本語で 800 字以内、1 枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用分子生命科学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1388 号	氏 名	橋本 憲輝
論文審査担当者	主査教授	山崎 隆弘	
	副査教授	坂井 昌 伸	
	副査教授	田邊 剛	
学位論文題目 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) 脱分化型肝細胞癌由来細胞株から誘導した癌幹細胞様 Sphere 細胞は抗癌剤耐性を有する			
学位論文の関連論文題目 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Cancer stem-like sphere cells induced from de-differentiated hepatocellular carcinoma-derived cell lines possess the resistance to anti-cancer drugs (脱分化型肝細胞癌由来細胞株から誘導した癌幹細胞様 Sphere 細胞は抗癌剤耐性を有する) 掲載雑誌名 BMC Cancer. Vol. 27 No. 14(1) P. 722 (2014 年 9 月掲載) 第 27 巻 第 14 号 P. 722~ (2014 年 9 月 掲載)			
(論文審査の要旨) 【背景】癌幹細胞は癌の治療抵抗性に重要な役割を果たしていると考えられている。我々は、特殊培地を用いてヒト肝細胞癌細胞株から癌幹細胞様細胞を誘導し、その抗癌剤耐性を解析した。【方法】ヒト肝細胞癌細胞株である SK-HEP-1 (SK)、HLE、Hep 3B、Huh-7 を用いて、neural survival factor-1 を添加した幹細胞用培地にて幹細胞様細胞 (Sphere 細胞) の誘導を行った。幹細胞マーカーとして <i>NANOG</i> と <i>LIN28A</i> の発現を解析した。癌幹細胞の表面マーカーである CD24 や CD44、CD44 variant、CD90 の発現をフローサイトメトリーを用いて解析した。抗癌剤耐性に関しては MTS アッセイ、細胞周期解析、活性酸素種 (ROS) 活性アッセイにより評価した。【結果】低分化型肝細胞癌由来の SK と未分化型肝細胞癌由来の HLE からは効率的に Sphere 細胞が誘導されたが、高分化型肝細胞癌由来の Huh-7、Hep 3B からは誘導されなかった。SK より誘導された Sphere 細胞 (SK-sphere) は、 <i>NANOG</i> 、 <i>LIN28</i> 、 <i>ALDH1</i> の mRNA 発現が亢進していた。また、SK-sphere では CD44 variant の発現が亢進していた。数種類の抗癌剤存在下で、ソラフェニブを除き、SK-sphere は高い細胞生存率を示した。細胞周期において SK-sphere は G0/G1 期の割合の増加を示した。また、SK-sphere における <i>ABCG2</i> と <i>HIF1A</i> の mRNA 発現亢進と活性酸素種の低下が観察された。【結語】我々の新規 Sphere 細胞誘導培養法により癌幹細胞様細胞が効率よく誘導可能であり、それらは化学療法抵抗性を示した。その機序には細胞周期や薬剤排出能、活性酸素種の関与が考えられた。 本研究は、脱分化型肝細胞癌由来細胞株から誘導した癌幹細胞様 Sphere 細胞は抗癌剤耐性を有することを明らかにした論文である。 よって学位論文として十分な価値があるものと認められた。			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。