

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 渡邊 裕策

### 〔題名〕

神経刺激因子を含む幹細胞培地は膵癌幹細胞を誘導する

### 〔要旨〕

癌幹細胞は自己複製能、多能性、抗癌剤からの抵抗性、遠隔臓器への転移能などを持つ点から注目されている。しかし、癌幹細胞は癌組織の中においても非常に少数のポピュレーションであり、癌幹細胞を研究するために十分な量を採取してくることは困難である。この問題を解決するため、我々はヒト膵癌細胞株から膵癌幹細胞を多く含むポピュレーションを誘導する方法を開発した。

我々の教室で樹立したヒト膵癌細胞株(YPK)をepidermal growth factor (EGF)、basic fibroblast growth factor (bFGF)、leukemia inhibitory factor (LIF)、neural cell survivor factor-1 (NSF-1)、N-acetylcysteineを含む幹細胞培地で培養すると、球状に浮遊したspheroid細胞が得られる。このspheroid細胞を回収し今度はラミニンでコートしたプレートに移しさらに2か月間培養を続けると付着細胞として増殖する。ここで得られた細胞をflowcytometryで解析したところ、膵癌幹細胞マーカーであるCD24、CD44陽性細胞の割合は親株で0.1%であったが、誘導した細胞集団ではYPK2で7.5±2.6%、YPK5で11.1±2.8%と上昇した(P<0.05)。また誘導した細胞の多くは休眠期にあたるG0/G1期にあり、SNAI1、ZEB2などの間葉系関連遺伝子やKIT、ALDH1A1などの幹細胞関連遺伝子を発現していた。マウスへの移植実験でも強い腫瘍形成能が確認された。

これらの結果から我々の誘導した細胞は癌幹細胞を豊富に含む集団であると考えられた。さらに我々は癌幹細胞の微小周辺環境を明らかにするため培養液中のサイトカイン、ケモカインの測定も行った。癌幹細胞を誘導した培養液中には、b-FGF、IL-9、IP-10、RANTES、G-CSFが高く、親株を培養した液中には、TGF-β1、TGF-β3、IL-5、IL-12、PDGF-BBが高く発現しており、癌と癌幹細胞の間には差が認められた。今後さらに研究を深めていくことで癌と癌幹細胞の微小周辺環境の解明につなげたいと考えている。

この癌幹細胞の誘導方法はわずかしか存在しない癌幹細胞を、非常に多く採取することが可能となり、今後の癌細胞研究をさらに深めていくことができる有益な方法であると考えている。

### 作成要領

1. 要旨は、800字以内で、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 1390 号	氏 名	渡邊 裕策
論文審査担当者	主査教授	山崎 隆弘	
	副査教授	張 和 功	
	副査教授	田 邊 剛	
学位論文題目名 (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。)			
神経刺激因子を含む幹細胞培地は膵癌幹細胞を誘導する			
学位論文の関連論文題目名 (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。)			
A stem cell medium containing neural stimulating factor induces a pancreatic cancer stem-like cell-enriched population (神経刺激因子を含む幹細胞培地は膵癌幹細胞を誘導する)			
掲載雑誌名 International Journal of Oncology;45(5):1857-66		(2014 Nov)	
(論文審査の要旨)			
<p>癌幹細胞は自己複製能、多能性、抗癌剤からの抵抗性、遠隔臓器への転移能などを持つ点から注目されている。しかし、癌幹細胞は癌組織の中においても非常に少数のポピュレーションであり、癌幹細胞を研究するために十分な量を採取してくることは困難である。この問題を解決するため、我々はヒト膵癌細胞株から膵癌幹細胞を多く含むポピュレーションを誘導する方法を開発した。</p> <p>我々の教室で樹立したヒト膵癌細胞株(YPK)を epidermal growth factor (EGF)、basic fibroblast growth factor (bFGF)、leukemia inhibitory factor (LIF)、neural cell survivor factor-1 (NSF-1)、N-acetylcysteine を含む幹細胞培地で培養すると、球状に浮遊した spheroid 細胞が得られる。この spheroid 細胞を回収し今度はラミニンでコートしたプレートに移しさらに2か月間培養を続けると付着細胞として増殖する。ここで得られた細胞を flowcytometry で解析したところ、膵癌幹細胞マーカーである CD24、CD44 陽性細胞の割合は親株で0.1%であったが、誘導した細胞集団では YPK2 で 7.5 ± 2.6%、YPK5 で 11.1 ± 2.8% と上昇した (P &lt; 0.05)。また誘導した細胞の多くは休眠期にあたる G0/G1 期にあり、SNAI1、ZEB2 などの間葉系関連遺伝子や KIT、ALDH1A1 などの幹細胞関連遺伝子を発現していた。マウスへの移植実験でも強い腫瘍形成能が確認された。</p> <p>これらの結果から我々の誘導した細胞は癌幹細胞を豊富に含む集団であると考えられた。さらに我々は癌幹細胞の微小周辺環境を明らかにするため培養液中のサイトカイン、ケモカインの測定も行った。癌幹細胞を誘導した培養液中には、b-FGF、IL-9、IP-10、RANTES、G-CSF が高く、親株を培養した液中には、TGF-β1、TGF-β3、IL-5、IL-12、PDGF-BB が高く発現しており、癌と癌幹細胞の間には差が認められた。今後さらに研究を深めていくことで癌と癌幹細胞の微小周辺環境の解明につなげたいと考えている。</p> <p>この癌幹細胞の誘導方法はわずかしかな存在しない癌幹細胞を、非常に多く採取することが可能となり、今後の癌細胞研究をさらに深めていくことができる有益な方法であると考えている。</p>			
<p>本研究は、神経刺激因子を含む幹細胞培地が癌幹細胞豊富な集団を誘導することを明らかにした論文である。よって、学位論文として価値あるものであると認められた。</p>			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。