

(様式 3 号)

## 学 位 論 文 の 要 旨

氏名 西山 光郎

## 〔題名〕

肝癌由来細胞株から誘導した癌幹細胞様細胞における転移能および上皮間葉系転換に関する解析

## 〔要旨〕

## 【背景】

癌幹細胞は腫瘍内に少ない割合で存在しており、腫瘍新生能や転移能、再発、抗がん剤耐性において重要な役割を担っていると考えられている。分化した癌細胞に上皮間葉系転換(EMT)を起こすことで癌幹細胞が誘導できることが報告されており、その理論の下に当科では独自の培地を用いて癌幹細胞様細胞の誘導に成功し、抗がん剤耐性について以前に報告した。今回は誘導した癌幹細胞様細胞の転移能を調べ、さらに癌幹細胞様細胞に対する網羅的発現解析を行った。

## 【方法】

肝癌由来細胞株である SK-HEP-1 を用いて通常の培地で培養した細胞と NSF-1 などを含む sphere 誘導培地を用いて得た癌幹細胞様細胞を超免疫不全マウスの脾臓に注射し、肝転移の形成を比較した。また flow cytometry や RT-PCR によって EMT マーカーや EMT 関連 mRNA の発現を調べた。さらに、次世代シーケンサーを用いて網羅的な解析を行った。

## 【結果】

癌幹細胞様細胞は親株と比較すると  $1 \times 10^3$  細胞脾注において肝転移を形成した頻度が有意に高かった。間葉系マーカーである Vimentin の発現は癌幹細胞様細胞で発現が亢進しており、EMT 促進転写因子である TWIST1, SNAIL の mRNA 発現も亢進していた。次世代シーケンサーを用いた RNA-Seq に続く Gene set enrichment analysis にて hypoxia、EMT に関連する遺伝子群の発現が癌幹細胞様細胞で有意に亢進していた。最も一般的な癌幹細胞マーカーである CD44 について isoform 解析を行ったところ、extra exon を有する CD44v の発現亢進がみられたとともに、CD44-short tail の発現亢進も認めた。

## 【結論】

誘導した癌幹細胞様細胞は抗がん剤耐性に加えて高い転移能を示した。EMT, CD44v, CD44-short tail と癌幹細胞性質の関連が示唆された。

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 1527号	氏 名	西山 光郎
論文審査担当者	主査教授	山崎隆弘	
	副査教授	坂井 明	
	副査教授	永野 浩昭	
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。)			
肝癌由来細胞株から誘導した癌幹細胞様細胞における転移能および上皮間葉系転換に関する解析			
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。)			
Metastatic ability and the epithelial-mesenchymal transition in induced cancer stem-like hepatoma cells. (肝癌由来細胞株から誘導した癌幹細胞様細胞における転移能および上皮間葉系転換に関する解析)			
掲載雑誌名 Cancer Science			
第 109 巻 第 4 号 P. 1101 ~ 1109 (2018 年 4 月 掲載)			
(論文審査の要旨)			
【背景】			
癌幹細胞は腫瘍内に少ない割合で存在しており、腫瘍新生能や転移能、再発、抗がん剤耐性において重要な役割を担っていると考えられている。分化した癌細胞に上皮間葉系転換(EMT)を起こすことで癌幹細胞が誘導できることが報告されており、その理論の下に当科では独自の培地を用いて癌幹細胞様細胞の誘導に成功し、抗がん剤耐性について以前に報告した。今回は誘導した癌幹細胞様細胞の転移能を調べ、さらに癌幹細胞様細胞に対する網羅的発現解析を行った。			
【方法】			
肝癌由来細胞株である SK-HEP-1 を用いて通常の培地で培養した細胞と NSF-1 などを含む sphere 誘導培地を用いて得た癌幹細胞様細胞を超免疫不全マウスの脾臓に注射し、肝転移の形成を比較した。また flow cytometry や RT-PCR によって EMT マーカーや EMT 関連 mRNA の発現を調べた。さらに、次世代シーケンサーを用いて網羅的な解析を行った。			
【結果】			
癌幹細胞様細胞は親株と比較すると $1 \times 10^3$ 細胞脾注において肝転移を形成した頻度が有意に高かった。間葉系マーカーである Vimentin の発現は癌幹細胞様細胞で発現が亢進しており、EMT 促進転写因子である TWIST1, SNAIL の mRNA 発現も亢進していた。次世代シーケンサーを用いた RNA-Seq に続く Gene set enrichment analysis にて hypoxia, EMT に関連する遺伝子群の発現が癌幹細胞様細胞で有意に亢進していた。最も一般的な癌幹細胞マーカーである CD44 について isoform 解析を行ったところ、extra exon を有する CD44v の発現亢進がみられたとともに、CD44-short tail の発現亢進も認められた。			
【結論】			
誘導した癌幹細胞様細胞は抗がん剤耐性に加えて高い転移能を示した。EMT, CD44v, CD44-short tail と癌幹細胞性質の関連が示唆された。			
本研究は、肝がんにおける癌幹細胞の vivo での転移能、癌幹細胞と CD44-short tail isoform の関連を示した論文である。これらはいずれも今までにほとんど報告されていないものであり、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。			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。