

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	瀧川 英彦
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Mesenchymal Stem Cells Induce Epithelial to Mesenchymal Transition in Colon Cancer Cells through Direct Cell-to-Cell Contact (間葉系幹細胞による、直接的な細胞-細胞間接触を介した大腸癌の上皮間葉系転換誘導)			
論文審査担当者			
主査教授	大毛宏喜	印	
審査委員教授	有廣光司		
審査委員講師	恵木浩之		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>骨髄由来間葉系幹細胞（Mesenchymal Stem cell; MSC）は創傷部のみならず癌間質に遊走することが報告されている。筆者らはこれまでに、ヌードマウス同所性大腸癌モデルにおいて MSC が大腸癌間質形成に寄与し、癌の増殖・転移を促進することを報告してきた（Shinagawa K, et al. Int J Cancer, 2010）が、その相互作用に関する詳細な機序は明らかとされていなかった。</p> <p>MSC は腫瘍の進展を促進するという報告がある一方、少ないながら腫瘍進展を阻害するという報告もなされている。MSC の向腫瘍性から薬剤輸送の手段としての期待がある一方、腫瘍増殖促進作用を有しており、癌に対する MSC の影響を明らかにすることは臨床的意義が高いと考える。これまでのマイクロアレイなどを用いた癌細胞と MSC の相互作用機序に関する報告では、MSC が癌細胞における CD44、lysyl oxidase、TWIST、MMP、WNT5A、TGF-β type I receptor、CD133 などの遺伝子発現上昇を介して、腫瘍進展や上皮間葉系転換（Epithelial Mesenchymal Transition; EMT）の促進を起こすことが報告されてきているが、その癌細胞と MSC との相互作用の機序については十分には明らかとなっていない。本研究において、癌細胞と MSCs の相互作用において、どのような、遺伝学的、病理学的、細胞生物学的な変化が起こっているかを明らかにする。さらには、その変化が、細胞-細胞間直接接触に伴うものか、液性因子を介した paracrine 機序によってもたらされるのかなど、詳細な機序を明らかにすることを目的とした。</p> <p>（1）癌と MSC の共培養実験</p> <p>MSC と癌細胞を接触性共培養すると癌細胞の増殖、遊走能は上昇し、癌細胞には EMT がみられた。一方、非接触性共培養ではそれらの変化はみられなかった。</p>			

(2) 癌細胞と MSC の接触性共培養における癌細胞での遺伝子発現変化

MSC との接触性共培養における、癌細胞の遺伝子発現変化をマイクロアレイで網羅的に解析すると、fibronectin (FN)などの EMT 関連遺伝子は上昇し、real time PCR でも validation がえられた。一方、非接触性共培養ではそれらの遺伝子発現の上昇はみられなかった。

(3) MSC との直接接触により誘導される癌部における FN 発現上昇とそれに伴う EMT

チャンバースライドによる実験では、癌細胞と MSC が接する、癌細胞のクラスター辺縁で FN 発現上昇がみられ、ヌードマウスを用いた同所移植モデルにおいても同様に、間質領域と接する癌辺縁部において FN の高発現がみられ、いずれの実験も MSC と癌の直接接触が癌に EMT を誘導することを示唆していた。

(4) 臨床検体を用いた検討

ヒト大腸癌手術標本から得られた組織における検討で、腫瘍先進部では、FN の高発現がみられ、EMT が認められた。非浸潤癌と比べて浸潤癌では FN の発現が高く、とくに浸潤先進部で高かった。FN 発現は腫瘍進展と相関し、FN 発現は予後不良因子であった。

以上の結果から、本論文は従来、癌細胞と MSC はパラクライン様式を介して相互作用すると報告されていたものを、MSC が細胞-細胞間直接接触を介して、癌細胞の EMT を誘導し、腫瘍の進展を促進していることを示した点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	瀧川 英彦
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Mesenchymal Stem Cells Induce Epithelial to Mesenchymal Transition in Colon Cancer Cells through Direct Cell-to-Cell Contact (間葉系幹細胞による、直接的な細胞-細胞間接触を介した大腸癌の上皮間葉系転換誘導)			
最終試験担当者			
主査教授	大毛 宏喜	印	
審査委員教授	有廣 光司		
審査委員講師	恵木 浩之		
〔最終試験の結果の要旨〕			
判定合格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年11月1日の第76回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年11月6日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 大腸癌細胞株の選択の方法と使用した細胞株の特性 2 MSIの程度とEMTの起こり方の関連 3 腫瘍細胞とMSCとの相互作用のメカニズム 4 MSCと腫瘍細胞のstemnessとの関連 5 Fibronectinの発現とMSC活性化との関連 6 MSCの癌の発育に対する反対方向の作用の要因 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			