

最終試験の結果の要旨

| | | | | |
|--|-----|-------|-------|---------------|
| 報告番号 | 総研第 | 488号 | 学位申請者 | 富山 成章 |
| 審査委員 | 主査 | 古川 龍彦 | 学位 | 博士 (医学・歯学・学術) |
| | 副査 | 夏越 祥次 | 副査 | 中川 昌之 |
| | 副査 | 中村 典史 | 副査 | 宮田 篤郎 |
| <p>主査および副査の5名は、平成30年10月2日、学位申請者 富山 成章 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。</p> <p>質問1) Cancer stem cells と cancer stem-like cells の使い分けはどのようにしているか。 (回答) 幹細胞の定義は自己複製能と多分化能であるが、がん幹細胞の多分化能は明確にされていない。また、これまでに報告された主ながん幹細胞はがん幹細胞を多く含むと考えられる集団を同定したものであり、厳密な意味でがん幹細胞を同定したわけではない可能性もある。これらのことから cancer stem-like cells がより適切な表現と考えられる。</p> <p>質問2) Sphere formation 以外の手法で行なった場合、表面マーカーの発現などはどのようになっていると予想されるか。 (回答) 子宮頸癌のがん幹細胞の報告では表面マーカー、Oct4 や SOX2 などの発現が一貫しておらず、不明である。</p> <p>質問3) Yumoto 細胞株を使用した理由は何かあるのか。 (回答) 予備実験において、S100A16 の発現亢進が著明であった事、3日間の sphere formation で spheroid 形成が可能であったことから選択した。</p> <p>質問4) EMT (epithelial-mesenchymal transition) のマーカーの変化を調べているか。また、どのようなことが予想されるか。 (回答) 今回は調べていないが、間葉系のマーカーの発現亢進が予想される。</p> <p>質問5) Yumoto 細胞株の p53 の状態はどのようになっているのか。 (回答) 既報によれば、野生型である。</p> <p>質問6) BCRP (breast cancer resistance protein)、MRP1 (multidrug resistance-associated Protein 1) が上昇し、P-gp (P-glycoprotein) のみが増加しなかった理由として考えられることはあるか。 (回答) この点は不明であるが、機能的には二つの輸送体の上昇により十分な外部変異原の排出が可能であるためと予想される。</p> <p>質問7) S100A16 が臓器ごと (がん腫ごと) で発現と予後が異なる理由として考えられることはあるか。 (回答) 乳癌および肺腺癌患者において、S100A16 の高発現が予後不良因子であると報告されている一方、口腔扁平上皮癌患者においては、S100A16 の低発現が予後不良因子と報告されている。この違いの理由として扁平上皮癌か腺癌の違いが理由の一つとして考えられるが、当該正常細胞での発現の違い、機能の違いも関与している可能性がある。</p> <p>質問8) がん幹細胞は他のがん腫の細胞へ変わるといった多能性を持っているのか。 (回答) 明確な報告はないが、他のがん細胞への変化は考えにくいと考えられる。</p> | | | | |

最終試験の結果の要旨

質問 9) S100A16 の発現制御はどうなっているのか。

(回答) S100A16 についての報告はない。S100A ファミリーは低酸素状態により発現が亢進されるため、S100A16 においても同様の機序で発現が亢進する可能性が考えられる。

質問 10) Yumoto 細胞株は HPV 陰性か。

(回答) 既報によれば、陰性である。

質問 11) HPV 陽性の細胞での実験は検討していないか。

(回答) 今回は検討していない。

質問 12) Figure 3 において、spheroid 径の比較を行なっているが、直径が大きいことは幹細胞性が高い、維持されているということか。

(回答) 直径の大きさは幹細胞の数を反映していると考えられるため、spheroid 径は幹細胞数を反映していると考えられる。

質問 13) S100A16 siRNA によるトランスポーターの発現の変化は検討しているか。

(回答) 今回は検討していない。

質問 14) S100A16 過剰発現株での検討は行っていないか。

(回答) 今回は検討していない。今後の検討課題としたい。

質問 15) Sphere formation で形成された spheroid ではがん幹細胞だけが増殖するのか。

(回答) 今回の実験の培養期間、spheroid に占めるがん幹細胞の割合は数%との報告から、がん幹細胞の増殖だけではないと考えられる。

質問 16) Spheroid 形成後、通常のシャーレで培養するとどうなるのか。

(回答) 3 日間の sphere formation で得られた spheroid を回収、再分散し、2 日間通常培養したところ、Oct4、Nanog および S100A16 の発現は亢進した状態を保っていたことから、少なくとも 2 日間は幹細胞の性質を維持していると考えられるが、長期培養での変化は不明である。

質問 17) Spheroid 形成後の S100A16 siRNA 処理で形態はどうなるのか。

(回答) 検討はしていないが、spheroid 径の減少が予想される。

質問 18) Yumoto 細胞株のがん遺伝子変異などは何かあるか。

(回答) これまでの解析はなく、不明である。

質問 19) S100A16 siRNA を用いた通常培養と sphere formation の比較実験において、通常培養細胞はどのように培養していたか。

(回答) siRNA を導入後、sphere formation を開始すると同時に播種細胞数を揃えて通常培養している。

質問 20) Figure 3 における siRNA の形態への影響について、細胞数での比較検討はしていないのか。

(回答) 細胞数の検討はしていないが、回収したタンパク量からは細胞数の減少が考えられる。

質問 21) Sphere formation による S100A16 の局在はどのようになっているか。

(回答) 通常 S100A16 は細胞質に局在しているが、sphere formation 後の検討は行なっておらず、不明である。

質問 22) カルシウム濃度の影響が S100A16 に及ぼす影響はどの様なものがあるか。

(回答) S100A16 における報告はない。S100A16 は EF ハンドを有することから、カルシウム濃度の影響があると予想されるが、具体的な影響は不明である。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士 (医学) の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。