



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膵管腺癌におけるマイクロ組織レベルの治療抵抗性ダイナミクス [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	太田, 悠介
Description	配架番号 : 2598
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14482号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81891
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yusuke_Ohta_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 太田 悠介

	主査	教授	武富 紹信
審査担当者	副査	教授	平野 聡
	副査	教授	田中 伸哉

学 位 論 文 題 名

膵管腺癌におけるマイクロ組織レベルの治療抵抗性ダイナミクス
(Chemoresistance dynamics at the microtissue-level in
pancreatic ductal adenocarcinoma)

膵癌は約 90%が浸潤・転移が非常に起きやすい膵管腺癌（PDAC）である。膵癌の発生極早期の段階において既に顕微鏡的マイクロレベルの潜在的な浸潤・播種・転移が起こっていると考えられているが、そのアグレッシブな癌生物学的腫瘍ダイナミクスについては、ほとんどわかっていない。上皮間葉転換（EMT）は癌の浸潤や転移に不可欠であるとされ、癌の悪性度の進行に必須であることが知られるが、最近、PDAC の腫瘍細胞の浸潤・転移には完全な EMT が必要ではないことが証明され、現在、PDAC の病態理解への根本的な変革が要求されている。当教室ではこれまでに、上皮系フィーダーとの共培養システムを用いて、癌細胞は足場依存性多細胞凝集塊（Ad-MCA）を形成し、癌幹細胞（CSC）様の治療抵抗性を容易に獲得することを報告してきた。同様の現象は、EMT が誘導される前の上皮系形質を保った PDAC 細胞においても確認されている。そこで本研究では、EMT が誘導される前の適応度の低い癌細胞は、集団組織化することで、強力な生存アドバンテージを獲得するとの仮説を立て、共培養システムや 3D 細胞組織培養デバイスであるマイクロ・ナノ基板を用いて、足場を獲得して細胞が集団組織化した膵微小癌を対象に PDAC の治療抵抗性の本質に迫った。第一章では、HEK293T 直接共培養システムを用いて、EMT を起こす前の Ad-MCA 形成 PDAC 細胞が、さらなる難治性を獲得することを明らかにした。第二章では、癌細胞のみで PDAC の Ad-MCA 様の微小癌の形成を誘導可能なマイクロ・ナノ基板を開発し、PDAC のマイクロ組織レベルの難治性獲得の機序についてダイナミクス解析を行った。第三章では、EMT の進行度が異なる複数の PDAC 細胞株の腫瘍ダイナミクス解析を行い、EMT 進行のマイクロ組織レベルにおける影響を可視化した。

審査にあたり、まず副査の田中伸哉教授から Ad-MCA 形成 PDAC 細胞における CSC マーカーの発現について質問があり、申請者は今回検討を行っていないが、自己複製能も併せて検討する必要があると回答した。次に、膵管上皮細胞ではなく腎上皮細胞である HEK293T 細胞を用いた理由について質問があり、申請者は培養が容易であり、細胞工学分野に広く用いられる HEK293T 細胞を上皮系フィーダー細胞として用いた実験系を確立したと回答した。線維芽細胞を用いた同様な報

告についての質問があり、申請者はそのような報告はなく、実際に線維芽細胞と共培養を行っても、Ad-MCA の形成はみられなかったと回答した。PDAC 細胞株の *RAS* 遺伝子変異についての質問があり、申請者は癌遺伝子パネル検査を施行したところ、全て *RAS* では *KRAS* 遺伝子変異がみられ、ヘテロ接合体であったと回答した。膵癌病理検体における Tumor budding の症例報告についての質問に対し、申請者は膵癌においても症例報告があると回答した。

副査の平野聡教授からソーティング以外で Ad-MCA のみを抽出する方法について質問があり、申請者は共培養システムでは技術的に困難であるため、第二章では共培養を必要としない技術の開発を行ったと回答した。次に、マイクロアレイ解析における HEK293T 細胞の影響は「最小限に抑えた」と記述すべきとのコメントに対し、申請者は指摘された点を論文修正すると回答した。エントロシスを誘導した細胞について質問があり、申請者は多核細胞とは異なるが、融合細胞も認められたと回答した。微小腫瘍よりは、微小癌と表現した方が理解しやすいとのコメントに対し、申請者は論文修正すると回答した。

最後に主査の武富紹信教授からヒト病理組織との比較検討が少ないとのコメントに対し、申請者は追加実験を遂行すると回答した。マイクロナノパターンを跨がない小さな微小癌は、Tumor budding を模倣しているという理解で正しいかの質問に対し、申請者はご認識の通りであると回答した。

本論文は、EMT が誘導される前の適応度の低い PDAC 細胞が集団組織化することで、単独では達成し得ない強力な生存アドバンテージを獲得することを明らかにした点において評価される。PDAC の細胞集団組織としての腫瘍ダイナミクスの機序を詳細に理解することは、今後、より効果的な新規 PDAC 治療法の開発にも役立つことが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。