



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Functional analysis of MAP17 in glioblastoma-initiating cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	DOU, Shenshen
Description	配架番号 : 2858
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15924号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92437
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	DOU_Shenshen_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 トウ シンシン

主査 教授 園下 将大
審査担当者 副査 教授 木下 一郎
副査 教授 加藤 達哉

学 位 論 文 題 名

Functional analysis of MAP17 in glioblastoma-initiating cells
(膠芽腫幹細胞における MAP17 の機能解析)

本研究は、膠芽腫の形成において Membrane-associated protein 17 (MAP17) が果たす役割の解明を目指したものである。この中で申請者は、MAP17 の発現が高い膠芽腫患者は発現が低い患者よりも予後不良であること、Glioblastoma-initiating cells (GICs) において治療薬テモゾロミド (TMZ) への曝露が MAP17 の発現を誘導すること、MAP17 が Twist1 の発現を誘導し TMZ に対する抵抗性を GICs に付与することなどを見出した。

審査にあたり、まず副査の木下一郎教授から、使用した細胞群の遺伝子発現プロファイルと比較したか質問があり、申請者は今回の実験では異なる患者から樹立した E6 細胞と E16 細胞を使用しており、両者は遺伝子発現プロファイルに大きな差がないことを確認していると回答した。次に、MAP17 の過剰発現実験の際に MAP17 を含まない空ベクターを使用した対照を設ける必要があるとの指摘があり、申請者はこの実験結果を加える予定であると回答した。また、MAP17 の発現亢進と NF- κ B 経路の活性化に相関があると考えた根拠を問われ、申請者は MAP17 の過剰発現が NF- κ B 経路の下流としても知られている因子の発現を誘導する結果が得られたためであると回答した。さらに、GICs を TMZ に曝露した期間はどれくらいか質問があり、申請者は、この実験では5日間だったが1～4日と細かく経時変化を追う必要があると認識しているほか、培養細胞に添加する TMZ の濃度も細かく変えて実験し、反応の時系列を詳細に解析する必要があると回答した。加えて、膠芽腫患者の治療法開発にあたって今回得た知見が貢献するか質問があり、申請者はアデノ随伴ベクターを使用した治療法研究を所属研究室が進めており、これを活用した MAP17 のノックダウンが有用である可能性があるとは回答した。

続いて副査の加藤達哉教授から、GICs 以外の腫瘍細胞も MAP17 を発現している機序や意義について質問があり、申請者は自身もそれらに興味を持っており、GICs が分化した後も MAP17 の高い発現が持続する可能性があること、また GICs 以外の細胞が TMZ に曝露された際に MAP17 の発現が亢進して GICs に変化する可能性があることを仮説として提示した。次に、MAP17 をノックダウンした GICs を作成したか質問があり申請者は、樹立してマウス脳

室に移植しこの細胞の造腫瘍性が低下することを見出したが、まだ十分に MAP17 のノックダウンの影響を解析できていないと回答した。また、使用した複数の GICs 間で Prrx1 の発現に差がある理由について質問があり、申請者はこれらは異なる膠芽腫患者から樹立された細胞でありこれが原因である可能性があるかと回答した。さらに、博士論文中の図板に関して可読性を向上させるために配置を改善する指導があり、申請者はこれを取り入れて論文を改訂することとなった。

最後に主査の園下将大教授から、今回使用した GICs が保有している遺伝子変異は何か質問があり、申請者は提供元である共同研究者からそれらの情報が開示されておらず現時点では不明であると回答した。次に、MAP17 と NF- κ B 経路の関係性を解析したい場合は GICs における両者の免疫共染色を実施すると良いとの提案があり、申請者は実施を検討したいと回答した。続いて、解析に使用した臨床検体は TMZ 投与を受けた患者のものかとの質問があり、申請者はこれも共同研究者からの情報がないため不明であるが、TCGA を使用したデータベース解析では約 600 例のうち半数以上が TMZ 治療を受けたことがわかったと回答した。加えて、申請者が作出した MAP17 過剰発現 GICs における MAP17 発現量は未操作 GICs と比較して数千倍に上昇しているが、これは臨床における発現上昇の程度を模倣しているか質問があり、申請者はその重要性を認識しており臨床の状況を模倣した状況での解析が重要であると回答した。最後に、申請者が提示した分子機序のモデル図では TMZ が MAP17 を誘導しているが、図 11 から TMZ は Twist1 の発現を誘導することが読み取れるため、図を改変する必要があるとの指摘があった。申請者はこれを取り入れ、TMZ が Twist1 の発現を誘導したのち MAP17 の発現亢進が生じる図へと改訂することとした。

本論文は、膠芽腫の形質や TMZ 処置に対する膠芽腫の応答性を MAP17 が規定することを示した点で評価され、膠芽腫に対する今後の治療応用への寄与が期待される。審査員一同はこれらの成果を評価し、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。