



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ハイドロゲルを用いた白血病幹細胞誘導に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	澤井, 彩織
Description	配架番号 : 2903
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16411号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95403
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SAWAI_Saori_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 澤井 彩織

主査 教授 佐藤 典宏
審査担当者 副査 教授 園下 将大
副査 教授 近藤 亨

学 位 論 文 題 名

ハイドロゲルを用いた白血病幹細胞誘導に関する研究
(Analysis of synthetic polymer hydrogel-based generation of leukemia stem cells)

申請者は、ハイドロゲルでの培養が白血病細胞の幹細胞性を誘導すること、ハイドロゲルで培養した細胞の遺伝子変動により同定された候補遺伝子が白血病の治療標的となる可能性を示した。

審査にあたり、まず副査の園下将大教授より、今後抽出された遺伝子を解析する際には、特定のシグナルに関与する遺伝子を優先的に解析すると効率がよいだろう、とご教示頂いた。続いて、抽出された遺伝子の **real-time PCR** の解析で有意差がつかない遺伝子があった理由について問われた。申請者は、がん幹細胞性を獲得した細胞は極少数であり、遺伝子によっては有意差がつかなかった可能性を考える、と回答した。次に、学位論文の細胞形態の写真が見にくく、修正もしくは削除するよう指摘があった。申請者は、修正すると回答した。次に、細胞培養の日数で遺伝子発現量の変動するメカニズムを問われた。申請者は、細胞がゲルからの刺激を受ける期間により変動する可能性を考える、と回答した。続いて、異所性移植で投与後に細胞の遺伝子発現量の変動する可能性を問われた。申請者は、なるべく幹細胞性を維持するためゲル上で長期培養した細胞を用いた、と回答した。次に、同所性と異所性移植の両方を行った理由を問われた。申請者は、異所性移植で腫瘍細胞の広がり等は評価できるが、より適切な評価方法は同所性移植だと考える、と回答した。次に、異所性移植で細胞数の違いによる検討もすべきだったのでは、という質問が出された。申請者は、今後の検討課題にする旨を回答した。次に、異所性移植の結論の妥当性について問われ、申請者は検討する旨を回答した。次に、データ解析の一部に用いた統計学的手法の妥当性について問われ、申請者は適切に修正する旨を回答した。

次に副査の近藤亨教授より、**single-cell RNA sequencing** の細胞の割合について質問が出され、申請者はそれを回答した。次に、**cluster 10** に分類された細胞のがん幹細胞性についての実験の必要性を問われ、申請者は今後の検討課題にする旨を回答した。

次に主査の佐藤典宏教授より、ハイドロゲル上でどのような現象が生じてがん幹細胞性を誘導するのか、という質問が出された。申請者は、がん幹細胞性を獲得した細胞が増えると考えている、と回答した。次に、白血病細胞は HARP 現象とは違う機序で幹細胞性を誘導するのかと問われ、申請者は考えられる機序について回答した。次に、ゲルによるがん幹細胞性誘導の根本的な定義について深く考えていくべきではないか、とご教示頂いた。

次に副査の園下将大教授より、1 細胞ごとに解析すればより詳細な検討ができるだろう、とご教示頂いた。次に、グラフのエラーバーの詳細を記載すべきとご指導頂き、申請者はこれを追記すると回答した。次に、論文内の図を拡大するよう指摘があり、申請者はこれを修正すると回答した。次に、引用文献の挿入箇所や誤字の指摘があり、申請者はこれを修正すると回答した。次に、使用した血清のメーカーについて追記すべきと指摘があり、申請者はこれを追記すると回答した。次に、学位論文の結果の記載を修正するよう指摘があり、申請者はこれを修正すると回答した。次に、異所性と同所性移植で細胞の培養日数が違う理由を問われた。申請者は、日程調整の都合上違う日数となったと回答した。次に、同所性移植で幹細胞性が低下したと思われる細胞を投与した理由について問われた。申請者は、幹細胞性を獲得したと判断したため投与したが、投与時の細胞の再評価で幹細胞性の低下が判明した、と回答した。次に、骨髓ニッチを模倣するために尾静脈からの投与が適切かと問われた。主査の佐藤典宏教授より、がん幹細胞は血管内や骨髓を移動することが可能であるため、適切であったとご教示を頂いた。次に、遺伝子をノックダウンした細胞はがん幹細胞性を失ったのか、と問われた。申請者は、今後 *in vivo* の実験などでさらに検討する必要がある、と回答した。

最後に主査の佐藤典宏教授より、今後がん幹細胞性の機序に迫るような研究を行うようご教示頂いた。

この論文は、ハイドロゲル上での細胞培養により白血病幹細胞の性質を誘導できることを明らかとし、今後の白血病幹細胞の研究の発展につながると考える。また、今回抽出した候補分子は白血病の治療標的となる可能性があり、白血病の治療開発につながる研究内容である点が高く評価される。今後の動物実験やヒトに対する臨床研究への応用が期待される。

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。