



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the effect of stiffness of tumor microenvironment on cancer stem cell properties using hydrogels [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	孫, 雁鵬
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(ソフトマター科学)
Dissertation Number	甲第16294号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95438
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yanpeng_Sun_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（ソフトマター科学） 氏 名 孫 雁鵬

審査担当者	主査	准教授 津田 真寿美
	副査	教 授 龔 劍萍
	副査	教 授 芳賀 永
	副査	教 授 田中 伸哉（医学研究院）

学 位 論 文 題 名

Study on the effect of stiffness of tumor microenvironment on cancer stem cell properties
using hydrogels
(ハイドロゲルを用いた腫瘍微小環境の硬さががん幹細胞の特性に及ぼす影響
に関する研究)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

がんの治療抵抗性、再発、転移は、がんにおいて依然として大きな課題であり、これは自己複製能と多分化能を有するがん幹細胞（Cancer stem cells：CSCs）が一因である。近年、腫瘍微小環境（tumor microenvironment：TME）の物理的特性、特に硬さが、CSCs の挙動を制御する重要な因子として認識されている。我々の研究室（北海道大学大学院医学研究院腫瘍病理学教室）では、龔劍萍博士らとの共同研究により、ダブルネットワーク（double-network：DN）ハイドロゲルはがん細胞を CSCs にリプログラミングすることを見出しており、「ハーブ現象（Hydrogel activated reprogramming phenomenon）」と命名した（*Nat Biomed Eng.* 5, 914-925, 2021）。この発見は CSC の誘導においてハイドロゲルからの機械的刺激の重要性を示唆しているが、腫瘍微小環境の硬さが CSC を生成する詳細な分子メカニズムは不明である。本研究では、多段階の硬さを有するハイドロゲルを合成することにより、細胞外環境の硬さが CSC の創出と維持に与える影響について検討することを目的とした。

本研究の第1章では、DN ゲルの 1st ネットワーク成分である PAMPS（poly (2-acrylamide-2-methylpropane sulfonic acid) ゲルについて、クロスリンカー MBAA（N,N'-methylenebisacrylamide）の濃度を調整することにより様々な硬さを有する PAMPS ハイドロゲルを作製し、がんモデル細胞として H-Ras および Src 形質転換マウス線維芽細胞（NIH3T3）を培養して、CSC 創出の効率を検討した。H-Ras 形質転換細胞は、一般的な腫瘍組織の硬さと同等の約 10 kPa の硬度を有するハイドロゲル上で培養すると、*Sox2*、*Nanog*、*Oct4* などの CSC マーカーが有意に上昇した。対照的に、Src 形質転換細胞では同条件で HARP 現象は誘導されず、H-Ras によるがん遺伝子特異的シグナル伝達が硬度依存的な CSC 生成に重要であることを示唆した。分子メカニズムの検討により、H-Ras 形質転換 NIH3T3 細胞では、機械的刺激感受性カルシウムチャネル、特に TRPC および TRPV ファミリータンパク質が、約 10 kPa の軟らかい環境に反応してカルシウム流入を制御し、ERK シグナル伝達経路の活性化を惹起することが特定された。さらに、細胞膜関連タンパク質であるデスモプラキンが 10 kPa ハイドロゲルと相互作用し、CSC 誘導に寄与することが明らかとなった。

本研究の第2章では、複数のヒトがん細胞株（脳腫瘍、膀胱がん、膵臓がん、子宮頸がん、滑膜肉腫、骨肉腫など）を異なる硬さの PAMPS ゲル上で培養することにより、CSC 創出の反応性を検討した。その結果、がん細胞株により CSC を誘導する最適な硬さが異なることが

明らかとなった。MIA PaCa-2（膵臓がん）などの一部の細胞株は柔らかい環境（10 kPa 以下）でがん幹細胞性が誘導されたが、KMG4（膠芽腫）や UM-UC-3（膀胱がん）などの細胞株は、より硬い条件（200 kPa）で CSC マーカーの発現が亢進した。本研究での重要な発見として、マイクロアレイ解析によって、硬い環境下で CSC を誘導するメディエーターとしてレプチン受容体（LEPR）を同定した。LEPR の発現は硬いハイドロゲル上で増加し、LEPR のノックダウンまたは薬剤による機能的阻害によって CSC マーカーの発現が有意に減少した。LEPR は ERK-RSK-YB1 シグナル伝達経路を活性化し、CSC を創出していることが明らかとなった。

本研究は、腫瘍微小環境の硬さに応じて異なる分子メカニズムを介して CSC が創出されることを明らかにした。10 kPa の柔らかい環境では、デスモプラキンと TRP カルシウムチャネルが硬さを感知し、一方より硬い環境では LEPR の下流で ERK-RSK-YB1 シグナル伝達を介して CSC の創出と維持が促進された。これらの知見は、機械的刺激に対する CSC 応答の可変性を示唆しており、機械的シグナル伝達経路（メカノトランスダクション）を治療標的とすることで、CSC 創出を阻害し、治療抵抗性を克服するための新規治療法を確立できる可能性を示唆している。

以上より、著者はがん微小環境の硬さを模倣するハイドロゲルをプラットフォームとして使用することにより、CSC の創出を制御するメカノバイオロジーに関する重要な知見を明らかにした。よって著者は、北海道大学博士（ソフトマター科学）の学位を授与される資格あるものと認める。