



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Exploration of the molecular mechanism and physiological significance of fetal reprogramming in the intestinal epithelium [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	陳, 策文
Description	配架番号 : 2938
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16547号
Issue Date	2025-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95843
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	CHEN_Cewen_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 陳 策文

主査 教授 野田 展生
審査担当者 副査 准教授 藤岡 容一郎
副査 教授 木下 一郎

学 位 論 文 題 名

Exploration of the molecular mechanism and physiological significance of fetal
reprogramming in the intestinal epithelium
(腸上皮における胎児様リプログラミングの生理的意義とメカニズムの探求)

申請者は、腸管上皮細胞が示す高い再生能力や可塑性に着目し、その分子機構解明のための障害となっている2つの技術的課題、すなわち(1) *in vitro* における腸管上皮細胞の胎児様リプログラミングを高効率・高再現性で行う技術および(2) *in vivo* における本来の環境下での解析を可能とする直腸・結腸上皮への正確かつ高効率な移植法の2つの開発を行った。(1)の課題では、カチオン性が強いC3A1ハイドロゲルが腸管上皮細胞の胎児様リプログラミングを高効率で進めることを見出し、その過程では Integrin/Src 経路が活性化され、さらに Yap/Taz や ERK5 シグナルも上昇すること、それがリプログラミング過程に必須であることを明らかにした。さらに長期培養により胎児腸管様状態が持続する PFILCs が得られること、PFILCs は外部ニッチ因子への依存度が低く、自律的に増殖できることを示すと同時に、腎被膜下への移植実験では、未熟ながら管状構造を作る再生能力を示すことを明らかにした。(2)の課題では、Caco-2 細胞をマウス盲腸粘膜上に付着させることで、Caco-2 由来の小さな腫瘍塊の形成に成功し、腫瘍塊は周囲の正常上皮を巻き込みながら増殖し、AXF 様病変、ポリープ様病変、さらに深部への浸潤など、多様な形態の腫瘍を再現することを示した。そして腫瘍周囲にはビメンチン陽性の間質細胞が動員され、がん細胞の増殖を助けること、一方で腫瘍の中心部では血流や間質細胞が乏しく、分裂能が低下する領域が見られること、がん細胞が正常上皮細胞の増殖を抑えこむように拡大することなどを明らかにした。

質疑応答では、副査の藤岡准教授より、まず学位論文全体に関するコメントがあり、フォーマットの間違いが散見されるため修正すべきであること、主語として *we* を使っているが *I* を使うべきであること、全体を通して統計解析をするべきであることとの指摘があり、申請者はそれぞれ対応すると回答した。続いてC3A1ハイドロゲルの物理的特徴についての質問があり、申請者はゲルのプラス電荷が重要であることと2D培養が重要であることを回答した。C3A1ハイドロゲルによりインテグリンの発現が増えるメカニズムについて質問があり、外部環境の変化がシグナルとして伝わったことでインテグリン発現が誘導されたのだろうと回答した。PFILCsではなぜEGF発現が上昇しているのかとの質問に対しては、自己分泌が亢進しているがそのメカニズムは不明であると回答した。続いて副査の木下教授より、C3A1以外のハイドロゲルについてもインテグリンシグナリングへの効果を検証した

のかとの質問があり、申請者は検証していないと回答した。今回開発した細胞移植法は本来の環境への移植として素晴らしい方法だと思うが、同様の手法の報告例はあるのかとの質問に対して、先行研究でいくつかの別の手法が報告されていること、それらはインジェクションを活用しており、場所の制御が難しいこと、またその後の観察にも特殊な装置が必要であることを説明し、申請者が開発した方法では場所の制御も観察も容易であることが優れている点であると回答した。続いて主査の野田教授より、ハイドロゲルは電荷だけ調べているが、硬さや可塑性などの物理的な性質もリプログラミング促進活性に影響する可能性があり、調べた方がよいのではとの質問があり、申請者はこれまで検討してこなかったが、今後検討したいと回答した。EdU ラベリング実験のデータが C3A1 ハイドロゲルの実験しか行っていない、コントロールとして標準的なポリスチレンを用いた実験もすべきではとの質問に対しては、2D 培養の技術的な問題から行っていないと回答した。C3A1 ハイドロゲルを他の細胞のリプログラミングに応用できないかとの質問に対しては、申請者は試していないが、所属研究室の他のメンバーが試していること、細胞ごとにハイドロゲルの組成を変える必要があることを回答した。

本論文は腸管上皮細胞の胎児様リプログラミング法の開発およびそのメカニズム解明に成功し、さらに大腸がんの進行過程をより正確に再現するための腸管上皮へのがん細胞の移植法の開発に成功した点において高く評価され、今後の大腸がん等への応用研究への進展も期待される。

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。