



Title	L1CAM発現が子宮体癌の悪性形質に及ぼす影響に関する検討
Author(s)	黒須, 博之
Description	配架番号 : 2988
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16895号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16895
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99740
Type	doctoral thesis
File Information	KUROSU_Hiroyuki_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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 黒須 博之

	主査	教授	近藤 亨
審査担当者	副査	教授	西尾 妙織
	副査	教授	園下 将大

学 位 論 文 題 名

L1CAM 発現が子宮体癌の悪性形質に及ぼす影響に関する検討
(Study on the Effects of L1CAM Expression on the Malignant Phenotype of Endometrial Cancer)

本学位論文は、子宮体癌において予後不良因子の1つと考えられている L1CAM が関わる悪性形質獲得の分子機序の解明を目的として遂行されたものである。L1CAM 発現がヒト子宮体癌細胞に及ぼす影響を検討するために、L1CAM 高発現と低発現ヒト子宮体癌細胞株を選定し、L1CAM のノックダウン(KD)及び強制発現 (OE)の影響について細胞増殖と細胞死について検討した。その結果、L1CAM が細胞増殖を促進することを明らかにした。次に、L1CAM に依存した分子メカニズムを解明する目的として RNA-seq 解析を遂行し、NF- κ B シグナル伝達系が亢進していることを発見した。上記細胞株、L1CAM-KD と -OE 細胞を使用した NF- κ B シグナル伝達系因子の発現量の検討、同シグナル伝達阻害剤の影響及び抗がん剤を用いた薬効試験から L1CAM-NF- κ B 経路が子宮体癌細胞の増殖と薬剤抵抗性を制御していることを発見した。更に、臨床検体を用いた免疫組織染色により L1CAM と NF- κ B(p65)発現の相関を確認した。

審査にあたり、まず副査の西尾教授から、子宮体癌細胞株の選択方法について質問があった。申請者は、所有していた子宮体癌細胞株のうち増殖が極めて遅く、本研究の細胞培養実験に適さなかった SPAC-1-S と HOUA を除外したこと、HEC-1 は MSH6 および PMS2 の遺伝子変異を有していることをから TCGA 分類の MSI hypermutated 群に該当する可能性があり、予後良好な振る舞いをするを理由に除外し、残りの3種類の細胞株を用いて解析を行ったと回答した。加えて使用した細胞株はヒト子宮体癌を反映した実験と考えてよいのかとの質問があった。これに対し申請者は、異なる変異を持つ細胞株や組織型の異なる細胞株を使用しており、予後が比較的によくない群の異なる子宮体癌を反映した実験と考えられると回答した。L1CAM 過剰発現実験において発現量を容量依存的に評価していない点について質問があり、申請者は本研究では過剰発現群とコントロール群の比較にとどまり、発現量の段階的検討は技術的に困難なために行っていないと回答した。さらに、実用化されている L1CAM に対する薬剤の有無について質問があった。申請者は現時点では研究用のもののみで、臨床使用可能なものはないと回答した。

次に副査の園下教授から、過剰発現実験の Western blotting の図の一部が不鮮明である点について指摘があった。申請者は、mRNA の発現量の測定や FLAG 抗体の WB による

確認は行っていたものの、当該図は望ましいものではなかったため、適切な図に差し替えると回答した。細胞増殖アッセイにおいて、ノックダウン細胞で4日目まで有意な差が出ない点について質問があり、申請者は子宮体癌細胞株の **doubling time** が長いため、差が生じるまでに時間を要した可能性があるとして回答した。細胞株への **puromycin selection** についての質問に対し、申請者は **L1CAM** ノックダウン細胞株については、研究初期段階で **selection** を行っても細胞死が認められなかったため実施しておらず、**L1CAM** 過剰発現株に関しては導入効率が低かったことから **puromycin selection** を行った上で実験を行ったと説明した。過剰発現株での導入効率は 2~3 割程度であったことも併せて回答した。**IKK β (EE)** と **L1CAM shRNA** の共感染実験については、単一細胞に両方の遺伝子が導入されていることをどのように確認したのかという質問があった。申請者は、本検証では単一細胞レベルでの確認は行えておらず、集団としての評価であると回答した。色素付きレポーターを併用するなどの提案を受け、今後の改良点とすると回答した。また、薬剤実験に関して、濃度を **5 μ M** と設定した理由について質問があった。申請者は、投与後 48 時間での **IC50** 値を基に設定したと回答した。

最後に、主査の近藤教授から、スクラッチアッセイやマイグレーションアッセイ等の結果の説明について、審査の中で説明がなされなかった点に関して質問があった。申請者は、技術的な原因により結果が正しく得られなかった可能性があることから、今回のプレゼンテーションに加えなかったことを説明し、学位論文から削除する旨を回答した。また、**Western blotting** や **real-time PCR** で **L1CAM** 発現が認められた **SPAC-1-S** 細胞株を使用しなかった理由について質問があった。申請者は、所有していた **SPAC-1-S** 細胞株は細胞増殖速度が極めて遅く、本研究に用いることが困難であると判断したと回答した。さらに、**L1CAM** ノックダウン実験において、想定している標的 (**L1CAM**) 以外にサイレンシングが生じていないかを検証するため、**L1CAM** 再発言によるレスキュー実験を将来的に行うべきではないかとの指摘があった。申請者は、複数の **L1CAM** ノックダウンコンストラクトを用いて **L1CAM** ノックダウン細胞に共通した影響が認められることは確認しているものの、**L1CAM** 再発現によるレスキュー実験については今後の検討課題としたいと回答した。

本論文は、**L1CAM** が **NF- κ B** 経路の活性化を介して、子宮体癌細胞に増殖能と抗がん剤耐性能を付与することを解明したものであり、子宮体癌に対するバイオマーカー及び治療標的として新規診断・治療法創出に繋がることが大いに期待される。

審査委員一同は、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。