

氏 名	AUNG KO KO OO		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	工 学		
学位授与番号	博甲第	5 8 2 6	号
学位授与の日付	平成30年 9月27日		
学位授与の要件	自然科学研究科 生命医用工学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Study on the Epigenetic Regulation in Cancer Stem Cells Development (がん幹細胞生成におけるエピジェネティック制御に関する研究)		
論文審査委員	教授 妹尾 昌治	教授 徳光 浩	教授 大槻 高史
学位論文内容の要旨			
<p>CHAPTER 1; General Introduction</p> <p>Cancer Stem Cells (CSCs), background history of CSCs model derived from iPSCs, Epigenetics and CSCs.</p> <p>CHAPTER 2; iPSC derived CSC model with lung metastasis developed in the microenvironment of lung carcinoma</p> <p>This chapter deals with the development of iPSC-CSC, named miPS-LLCcm, where miPSCs were treated with the conditioned medium of Lewis lung carcinoma (LLC) cells for four weeks. The self-renewal and differentiation capability of miPS-LLCcm, crucial characters of CSC, were evaluated. Further characterization of miPS-LLCcm in accordance with its tumorigenic and metastatic potential, were carried out in vitro and in vivo. The resulting miPS-LLCcm derived tumors were characterized by morphological, histopathological and molecular techniques and the primary culture were prepared from tumor and lung metastatic nodules for future study. The genes expression of our CSC relating to tumorigenic differentiation of miPS-LLCcm cells was analyzed by focusing on the two groups of gene candidates; (1) Stemness markers, (2) Epithelial to mesenchymal transition. The expression of common CSC markers was evaluated.</p> <p>CHAPTER 3; Up-Regulation of PI 3-Kinases and the Activation of PI3K-Akt Signaling Pathway in Cancer Stem-Like Cells Through DNA Hypomethylation Mediated by the Cancer Microenvironment</p> <p>In this chapter, global DNA methylation analysis in cancer stem-like cells by Reduced Representative Bisulfite Sequencing (RRBS) method. We extracted the differentially methylated regions (DMRs) in CSCs compared with parental miPSCs in which hypomethylation was found superior to hypermethylation. We evaluated the novel list of DMR-related genes categorized as hypo- and hyper-methylated genes. They were used to nominate KEGG pathways related with CSC. According to the results, the PI3K-Akt signaling pathway should be an important pathway, and it had been confirmed with western blotting and qPCR technique. This study was concluded the finding that up-regulation of PI 3-kinases and the activation of PI3K-Akt signaling pathway through DNA hypomethylation were new concept of CSC development mediated by the cancer microenvironment.</p>			

論文審査結果の要旨

本研究では、マウス iPS 細胞からルイス肺癌細胞株の培養上清を用いて誘導したがん幹細胞の解析を行っている。ルイス肺癌細胞株の培養上清を用いて培養した iPS 細胞は、自己複製能と分化能を示しヌードマウスへの皮下移植で旺盛な血管新生を示し MUC1 を発現する腺癌の形成と肺転移を示したことからがん幹細胞に変化したと判断できる。この過程では遺伝子の導入や変異を意図的に行っていないことからこの変化は通常の形質転換とは区別されるものであり、正常な細胞との差を解析することはがん化の初期過程を解明するための有益な材料となると考えられた。そこで、iPS 細胞から誘導されたがん幹細胞 miPS-LLCcm 細胞をマウスに形成した腫瘍組織から初代培養を行って Ptdc 細胞を樹立し、さらに、肺転移した腫瘍からも初代培養を行って LMN 細胞を樹立した。Ptdc 細胞も LMN 細胞はともにがん幹細胞マーカーである ALHD1 と CD44 が高発現していることを確認するとともに、Ptdc 細胞では上皮間葉転位のマーカーも発現していることを確認した。これは Ptdc 細胞が転移能を有して肺転移いたことを示唆している。これらの miPS-LLCcm 細胞、Ptdc 細胞、LMN 細胞 DNA のメチル化レベルを比較したところ、これらの細胞ではマウス iPS 細胞と比較してメチル化よりも脱メチル化が亢進していることがわかった。また、脱メチル化部分の遺伝子が関与するシグナル伝達カテゴリーを KEGG データベースで解析すると、がん関連のシグナル伝達に関与する遺伝子群が候補として挙がり、これらの遺伝子の発現を確認したところ Pik3r5 と Pik3cg の発現が過剰に上昇しており、クラス IB PI3K が形成されることが示唆された。この PI3K は G タンパク質共役型受容体の活性化に依存していることから、LLC 細胞の培養上清にがん化の初期過程に関わる因子が多く含まれていることが予測される。Akt キナーゼの活性化も認められることから、このシグナル経路が腫瘍の成長から転移のプロセスに関与していることが示唆された。したがって、PIK3CG と PIK3R5 をがん原遺伝子と考え、正常な iPS 細胞から遺伝子の変異や導入を経ない過程でがん化の初期過程を説明することができることを示した。以上より、この研究はこれまでに無い新しい観点からがんを把握して、新規な治療戦略の発展を加速化することが期待できる成果と認め、審査委員の全員が本論文を学位にふさわしい論文であると評価した。