

氏名	Eman Ahmed Mohamed Mohamed Taha
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第 6263 号
学位授与の日付	2020年 9月25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	Studies on the facts of the loss of MMP3 on tumoroid formation and the integrity of extracellular vesicles (MMP3の欠損が腫瘍形成と細胞外小胞の完全性に及ぼす影響に関する研究)
論文審査委員	准教授 佐藤 あやの 教授 大槻 高史 教授 徳光 浩
<b>学位論文内容の要旨</b>	
<p>MMP3 is a proteolytic enzyme, as well as a transcriptional factor that plays a crucial role in tumor progression (Eguchi et al. 2008; Okusha et al. 2018; 2020). However, the roles of MMP3 within EVs had not unveiled before our study. Recently, our research group has generated MMP3-KO cells by CRISPR/Cas9 system from rapidly metastatic murine cancer cell line LuM1 with a parental cancer cell line Colon26 (aka CT26) (Okusha et al. 2020). In the current study, I found that MMP3 was abundantly detected in the high-metastatic cancer cells, their non-EV fluids, and EVs, although not in/from MMP3-KO cells. Thus, hereby I newly explored (i) the oncogenic role of MMP3 on the in vitro tumoroid formation and on their EVs integrity under the 3D culture system, (ii) the tumorigenic potential of MMP3-rich versus MMP3-null EVs, and (iii) the EVs-mediated molecular transfer of MMP3 into the MMP3-KO tumoroids under the 3D culture system.</p>	

## 論文審査結果の要旨

申請者は、本研究科大学院後期課程において、マトリクスメタロプロテイナーゼ3を欠損した腫瘍オルガノイドとがん細胞由来の細胞外小胞の特徴付けを行い、その結果を学位論文にまとめた。

細胞外小胞は、細胞間のコミュニケーションをになうオルガネラとして近年注目を集めている。また、マトリクスメタロプロテイナーゼ3 (MMP3)は、がんの進行や転移に重要な役割を果たすと考えられているが、MMP3と細胞外小胞の両方がどのようにがん細胞の増殖に寄与するのかは明らかになっていなかった。本研究では、MMP3遺伝子を破壊し、破壊された細胞が分泌した細胞外小胞の解析および腫瘍オルガノイド形成への影響を調べた。

MMP3遺伝子破壊細胞を用い腫瘍オルガノイドの形成実験を行ったところ、オルガノイドは対照に比べて有意に小さくなった。このオルガノイドに、対照細胞またはMMP3遺伝子破壊細胞由来の細胞外小胞を加えたところ、対照細胞由来の細胞外小胞は、オルガノイド形成を有意に促進した。これらのことは、MMP3が細胞外小胞を介して腫瘍オルガノイド形成を促進することを示す。さらに、蛍光標識化した細胞外小胞を分泌する細胞を樹立し、蛍光標識化細胞外小胞を精製し、このオルガノイドに添加したところ、蛍光標識化細胞外小胞はオルガノイドの奥深くまで浸透し、CD9マーカーの発現を増加させることが示された。また、MMP3遺伝子破壊細胞由来の細胞外小胞は、対照に比べるとオルガノイドに浸透しにくいことが示され、細胞外小胞分泌を介したMMP3による腫瘍増殖促進機構が初めて明らかになった。

これらの研究成果は、生命医用工学にとって有用な知見と方法論を提供するものだと考え、分子生物学、生化学、細胞生物学を専門とする審査員から構成される学位審査委員会は、学位論文の内容、公聴会による発表内容等を総合的に判断し、本論文は博士（学術）に値するものと判定した。