

氏名	杉田 幸
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第 6516 号
学位授与の日付	2021年 9月 24日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	腫瘍内 $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose 最大取込み細胞の細胞生物学的特性に関する研究
論文審査委員	教授 森田 英利 教授 舟橋 弘晃 教授 齋藤 昇 准教授 畑生 俊光
<b>学位論文内容の要旨</b>	
<p>糖代謝亢進は多くの癌に共通する特徴の一つである。<math>^{18}\text{F}</math>-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography (<math>^{18}\text{F}</math>-FDG-PET) は全身の糖代謝を非侵襲的に可視化する検査方法で、癌の診断、ステージ評価及び治療効果判定に利用されている。複数の癌において、腫瘍内の最も高い <math>^{18}\text{F}</math>-FDG 取込みを示す maximum standardized uptake value (<math>\text{SUV}_{\text{max}}</math>) は予後不良と相関することから、腫瘍内で高い糖要求度を持つ細胞の生物学的特徴を特定することは、癌の新規治療標的探索において非常に重要である。これまでの報告から、腫瘍内低酸素領域における癌関連線維芽細胞 (CAF: cancer-associated fibroblasts) 又は上皮間葉系転移 (EMT: epithelial-mesenchymal transition) を生じた癌細胞が高い <math>^{18}\text{F}</math>-FDG 取込みの担い手であるとの仮説があるものの、未だ特定に至っていない。本試験では、ヒト扁平上皮癌由来株である A431 細胞を C.B-17/Icr-scid/scid マウスに皮下移植して作成した腫瘍に対し、蛍光多重免疫染色と顕微鏡レベルの空間分解能を持つマイクロオートラジオグラフィーを定量的に施し、複数の分子マーカー発現、癌微小環境及び腫瘍内 <math>^{18}\text{F}</math>-FDG 分布を同一切片上で同時可視化することで、<math>^{18}\text{F}</math>-FDG 最大取込み細胞の生物学的特徴を探索した。</p> <p>担癌マウスの <math>^{18}\text{F}</math>-FDG-PET において、臨床像と同様の不均一な腫瘍内 <math>^{18}\text{F}</math>-FDG 分布を認めた。免疫組織染色-マイクロオートラジオグラフィー同時検出において、Pimonidazole 陽性領域で高い銀粒子の集積を認めた。Pimonidazole 陽性領域への CD31 陽性細胞の浸潤は少なかった。これらのことから、血流不良によって低酸素となった領域への <math>^{18}\text{F}</math>-FDG 集積が示唆された。銀粒子の密度は vimentin 陽性領域に比べて Pimonidazole 陽性領域で有意に高く、浸潤した宿主間葉系細胞よりも低酸素環境にある細胞への <math>^{18}\text{F}</math>-FDG 集積が示唆された。さらに、銀粒子の密度は EGFR 陰性領域に比べ EGFR 陽性領域で高く、EGFR 陽性且つ Pimonidazole 陽性領域で有意に高かった。これらのことから、浸潤した宿主間葉系細胞よりも低酸素環境にある癌細胞への <math>^{18}\text{F}</math>-FDG 集積が示唆された。Pimonidazole 陽性領域について S100A4 陰性領域と S100A4 陽性領域の銀粒子密度を比較したところ、S100A4 陰性領域に比べ S100A4 陽性領域で有意に銀粒子密度が高かった。これらのことから、A431 移植を皮下移植した C.B-17/Icr-scid/scid マウス腫瘍の <math>\text{SUV}_{\text{max}}</math> 領域の細胞の生物学的特徴として、低酸素環境下の EMT を生じた A431 由来細胞であることが示唆された。</p>	

## 論文審査結果の要旨

癌は免疫細胞、繊維芽細胞、血管内皮細胞といった正常細胞の浸潤を受けており、浸潤した細胞そのものや新生血管に代表される浸潤細胞が形作る構造と相互作用する。その結果、癌内部には癌微小環境と呼ばれる多様なセグメントが構築される。糖代謝亢進は多くの癌に共通する特徴の一つである。<sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography (<sup>18</sup>F-FDG-PET) は、全身の糖代謝を非侵襲的に可視化する検査方法で、癌の診断、ステージ評価及び治療効果判定に利用されている。<sup>18</sup>F-FDG-PETで描出される腫瘍内の糖代謝は、一様ではなく、糖要求度が高い細胞と低い細胞の存在が示唆される。本学位論文は、本申請研究で採用した<sup>18</sup>F-FDGをはじめとするポジトロン核種標識化合物を用いたマイクロオートラジオグラフィ (MARG) は世界的にみてもほとんど実施されておらず、また通常MARGは免疫組織染色との併用が困難であるため、蛍光多重免疫組織染色と顕微鏡レベルの空間分解能を持つMARGを定量的に施し、複数の分子マーカー発現、癌微小環境及び腫瘍内<sup>18</sup>F-FDG 分布を同一切片上で同時可視化できるように改良されたMARGの方法を更に改良した方法を用いて、ヒト扁平上皮癌を皮下移植した担癌マウスの腫瘍における<sup>18</sup>F-FDG 最大取り込み細胞の細胞生物学的特徴を探索することを目的として行われた。本論文で明らかにされた腫瘍内<sup>18</sup>F-FDG最大取り込み細胞の特性は、ヒト扁平上皮癌細胞移植モデルマウスにおいて低酸素環境下の上皮間葉系転移を生じたヒト扁平上皮癌由来癌細胞であると考えられ、<sup>18</sup>F-FDG最大取り込み細胞について新しい知見を得た。本研究の結果は、癌の新規治療方法や検査方法の開発につながる非常に重要な知見である。論文提出者は、本研究論文について十分理解し、発表会における質疑応答も十分なものであると考えられた。よって本論文は最終試験に合格するに値すると結論付けた。