

氏 名	MONA ANAS ELSAYED ABDELMOETY SHETA		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	統合科学		
学位授与番号	博甲第	6 6 6 2	号
学位授与の日付	2 0 2 2 年 3 月 2 5 日		
学位授与の要件	ヘルスシステム統合科学研究科 ヘルスシステム統合科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Study on the Development of Cancer Stem Cells under the Microenvironment of Chronic Inflammation Containing High Dose of Fibroblast Growth Factor 2 (線維芽細胞増殖因子 FGF2 を高濃度を含む慢性炎症の微小環境において生成する癌幹細胞の研究)		
論文審査委員	教授 徳光 浩	准教授 佐藤 あやの	教授 妹尾 昌治
学位論文内容の要旨			
<p>Recently, research interest in understanding the multistage mechanism of carcinogenesis has been increasing. Tumor and embryonic tissue development, from which unique insights are provided, are closely related to each other. In this regrade, the transformation of normal stem cells into neoplastic cells could be suggested as tumor driven process in which normal stem cells acquire malignancies to become cancer stem cells (CSCs). CSCs refer to the subpopulation of cancer cells with the ability to differentiate into other cell phenotypes and initiated tumorigenesis. Hence, chronic inflammatory microenvironment may result in CSCs generation.</p> <p>The pioneering work of the host laboratory directed by Prof. Dr. Seno on inflammatory microenvironment has demonstrated that condition media (CM) from cancer cell line cells provide a tumoroid model of self-renewing CSCs. However, as a common limitation in CM studies, the responsible factors are still complicated to be elucidated and the reported results is limited. These problems need to be addressed by more algorithms analysis for cancer cell lines-derived CM to advance the possibility of defining CSCs generation-based factors in the study of the microenvironment of chronic inflammation.</p> <p>In this research, we utilized a meta-analysis of the gene expression profiles of breast cancer-derived cells to study the factors to influence events responsible for CSCs generation. The expression of fibroblast growth factor 2 (FGF2) in BT549 cells, from their CM more aggressive tumors was induced, was found to be the highest. The goal of this study was to determine the effect of chronic dose of FGF2 on miPS cells and demonstrate the possibility of inducing CSCs.</p> <p>Recombinant human FGF2 (rhFGF2) was prepared using bacteria transformed with a pET14b vector carrying human FGF2 cDNA, and the activity was confirmed by on serum-starved Balb/c 3T3 cells. Next, the effect wide range of concentration of rhFGF2 on miPSCs was analyzed to study the generation CSCs associated with the exogenous exposure to chronic dose of rhFGF2. The possible mechanism involved in this conversion also investigated. The results demonstrate that CSCs generated by chronic exposure to FGF2 acquired the potential to express FGF2, FGFR, and SRC, which led to the autocrine growth of the cells. Furthermore, upregulation of integrin molecules leads to PTK2 recruitment, which is activated by FGFR/SRC, and subsequently influence PI3K/AKT signaling that enhance tumor growth.</p> <p>As future clinical applications, chronic inflammation experiment on normal stem cell niche, represented by chronic exposure to FGF2 on miPSCs, may help to better understand the relation between inflammation and tumor initiation.</p>			

論文審査結果の要旨

がんは日本のみならず諸外国においても疾病による死亡原因の上位を占めており、有効な治療方法の研究開発が長年に渡り続けられている。がんはがん幹細胞の生成から始まり、がん組織はがん幹細胞とその娘細胞が分化増殖を繰り返してできる不均一な細胞集団であるため治療は複雑になる。その一方で、がん幹細胞の発生メカニズムを知ってがんの発症を抑制する方法を確立すれば、効果的な発症予防が可能になり、患者数を減少させることができ、自ずと死亡数も低下すると考えられる。がん幹細胞は人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を種々のがん細胞株の培養上清を用いて培養することにより生成できることはすでに報告されてきたが、その培養上清中に存在する要素については未詳である。本論文では、炎症と発がんの観点から iPS 細胞からがん幹細胞を誘導する細胞の微小環境の中からその要素の存在を明らかにすることを目的とした。これまでにがん幹細胞誘導に実績のあるヒト乳癌がん細胞株数種の遺伝子発現プロフィール (Gene Expression Omnibus, NCBI) を比較して、培養上清に比較的高濃度で存在する炎症関連因子を抽出し、さらに逆転写定量 PCR によりそれら発現を比較すると線維芽細胞増殖因子 FGF2 の高い発現が認められた。そこで、慢性炎症を想定した高い濃度の FGF2 を培地に添加して iPS 細胞の培養を行なった結果、3 μ g/mL の FGF2 添加を 3 週間継続すると iPS 細胞はがん幹細胞の特徴である自己増殖能、スフェア形成能、分化能及び腫瘍形成能を獲得した。このがん幹細胞は FGF2 遺伝子の他に、pik3ca, pik3cb, pik3r1, インテグリン α/β , フォーカルアドヒージョンキナーゼ等を高発現する様になっていたが、いずれの遺伝子にもがん化と関連する変異は認められなかった。また、細胞は細胞外マトリックス依存的に Akt が活性化しており、FGF2 刺激によるオートクリンループがフォーカルアドヒージョンにより PI3K/AKT シグナル経路を増強している関係が示唆された。以上のことから、FGF2 の慢性的暴露によりエピジェネティックにがん幹細胞誘導が可能であり、獲得された形質は不可逆なクロストーク形成によりがんを発症させていることを示唆する。この成果は今後のがん研究に貢献する可能性の高い研究と期待されると認め、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。