

(様式 17)

## 学位論文審査の概要

博士の専攻分野の名称      博士 (医 学)      氏 名 茂木 洋晃

主査 教授 田中 伸哉  
審査担当者 副査 教授 近藤 亨  
副査 教授 松野 吉宏  
副査 教授 寶金 清博

### 学 位 論 文 題 名

A novel adherent culture method of glioblastoma stem-like cells  
using type 1 Collagen

(コラーゲン 1 を用いた膠芽腫幹細胞の接着培養法の新規開発に関する研究)

発表内容はグリオブラストーマにおける癌幹細胞接着培養法の確立に関する研究である。

今回、発表者は特にコラーゲン 1 を用いた培養法の検討を行っている。これまで癌幹細胞の培養に関しては、無血清培地いくつかの増殖因子を加え球体(sphere)を形成させることで幹細胞を濃縮させる方法が一般的であった。しかし sphere 形成法では幹細胞を未分化状態に維持できず、また内部が壊死することがあり、問題であった。これらの現象は幹細胞の未分化維持に働く各種因子や幹細胞機能を維持する各種栄養因子が sphere 内部に浸透できないために生じると考えられる。これは in vitro における抗腫瘍実験に際しても均等な薬剤への暴露が困難である点などから大きな障壁になり、接着培養系における癌幹細胞増殖法の確立が重要と考えられており、その培養法に関して検討している。

U87MG、グリオブラストーマの primary culture を検討したが、CD133 陽性細胞は壊死組織周囲と腫瘍血管周囲に存在する type 1 collagen に接するように局在することがわかった。Col/SFM で培養した U87MG と膠芽腫細胞において CD133 や Nestin の発現増強が認められた。また、Col/SFM で 10 回以上継代した膠芽腫細胞は Non-coat/SFM で培養することにより高率に Sphere 形成を認め、幹細胞性を維持していることが示唆された。免疫不全マウスへの移植で Col/SFM にて培養した膠芽腫細胞は 1 万個の移植でも腫瘍形成を認め、癌幹細胞培養にコラーゲン 1 が有用であるとの報告であった。

主査・副査よりコラーゲン 1 がどのように幹細胞性の維持に関与しているかなど複数の質問・指摘があった。その一部は今回の研究では確認できておらず、今後の課題となると考えられた。この論文の基礎論文は Neuro-oncology に投稿中であるが、癌幹細胞をターゲットとした drug screening の実験系を確立するうえで布石となるデータを提供しうると考えられ、審査員一同はこれらの成果を評価し、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考えられた。