

## 学位審査結果報告書

学位申請者氏名 池田 礼子

学位論文題目 Fabrication of a Three-Dimensional Spheroid Culture System for Oral Squamous Cell Carcinomas Using a Microfabricated Device

審査委員 (主査氏名) 古株彰一郎 (署名) 古株彰一郎

(副査氏名) 竹内 弘 (署名) 竹内 弘

(副査氏名) 鷺尾 絢子 (署名) 鷺尾 絢子

### 学位審査結果の要旨

がん幹細胞 (CSC) が、がんの再発や転移に関与しているため、CSC を標的とした研究が必要となってくる。しかしながら従来の 2 次元条件下で培養した細胞を用いた実験方法では、組織環境が生体内と大きく乖離しており、抗がん剤に対する感受性や増殖様式が異なると考えられ、適切な実験モデルの確立が求められている。

そこで申請者らは、細胞同士が凝集した球状の細胞集合体であるスフェロイドが作製可能な装置を用いて、癌組織の環境と類似した口腔扁平上皮癌の 3 次元培養をおこない、その特性について 2 次元培養法と比較検証することとした。

ヒト舌扁平上皮がん細胞株 (HSC-3) およびヒト歯肉扁平上皮がん細胞株 (Ca9-22) をポリエチレングリコール処理により培養表面に非接着処理を施したマイクロウェルデバイスに播種し、スフェロイドを作製した。デバイス内に播種した口腔がん細胞は、速やかに凝集し、スフェロイドを形成した。形成されたスフェロイドは、培養 5 日目においても辺縁平滑な形態を維持しており、LIVE/DEAD assay の結果、その構成は生細胞を主体としていることが確認された。また、スフェロイド構成細胞は、2次元培養群に比較して CSC マーカーの mRNA 発現量が亢進しており、さらに抗がん剤であるシスプラチンに対する抵抗性の増加が確認された。3 次元培養環境下において、スフェロイド構成細胞の幹細胞性を獲得する可能性が示唆された。免疫組織染色の結果、CSC マーカー陽性細胞はスフェロイド全体に観察され、低酸素環境が幹細胞性獲得の主要因である可能性は低いと考えられた。一方で、ヌードマウスに対する HSC-3 移植実験では、形成される腫瘍の大きさについて、2次元培養群とスフェロイド培養群の間に明らかな相違は観察されなかった。

以上から、確立したスフェロイド培養系は、口腔癌細胞の CSC を大量かつ均一に作製し、将来的には CSC を標的とした創薬などハイスループットな解析に応用可能なツールであることが示唆された。

本研究内容について申請者の池田氏に対し、主査と 2 名の副査による試問を行い、実験手法や結果の解釈および当該分野における意義と臨床応用への展望や今後の課題等についておおむね適切な回答を得た。本研究は口腔科学研究の発展に貢献することも期待されることから審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。