

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲	第	号
------	-----	---	---

氏 名 曹 東亮

論 文 題 目

A New Tumorsphere Culture Condition Restores Potentials of Self-Renewal and Metastasis of Primary Neuroblastoma in a Mouse Neuroblastoma Model

(神経芽腫原発腫瘍からの自己複製能・転移能を維持した tumorsphere培養)

論文審査担当者


主 査 委 員

名古屋大学教授

志川 潤一 


委 員

名古屋大学教授

豊岡 伸哉 

委 員

名古屋大学教授

高橋 雅英 

指 導 教 授

名古屋大学教授

門松 建治 

## 論文審査の結果の要旨

神経芽腫は頭蓋外では最も症例数の多い小児固形腫瘍であり、交感神経から発生する。これまでの治療研究にも関わらず、骨髄転移を来したハイリスク患者の生存率は10%以下と低いのが現状である。この状況を打破するには、神経芽腫の発生と転移のメカニズムを明らかにすることが必要である。

高い腫瘍形成能を持つ神経芽腫細胞を選択的に *in vitro* で培養し、非接着状態の球状塊である「Tumorsphere」を形成させる手法を用いると、神経芽腫研究に有用な細胞リソースを得る事ができる。従来の培養条件では、骨髄転移した組織からは *in vitro* で長期間継代可能な tumorsphere を培養することができていた。しかし、原発腫瘍組織から培養した tumorsphere は、継代につれて自己複製能を失い、維持することができなかった。

本研究は、神経芽腫モデルである MYCN トランスジェニック (Tg) マウスを用い、神経芽腫原発腫瘍から腫瘍形成能と自己複製能を維持した tumorsphere を培養するための条件を樹立した。その新しい培地 (PrimNeuS) には、FBS と  $\beta$ -メルカプトエタノールという二つの重要な成分が含まれており、これらが腫瘍形成能と自己複製能の維持に必要なことを見出した。PrimNeuS を用いると、tumorsphere を 20 回以上継代することができ、その細胞は分化能と腫瘍形成能を保持していた。この PrimNeuS を用いた培養により、MYCN Tg マウスにおいて骨髄転移が起こっていることも明らかになった。また、原発腫瘍から培養した tumorsphere を移植した皮下腫瘍が骨髄に転移することを確認した。

これらの結果から、PrimNeuS を用いた tumorsphere の培養は神経芽腫研究の有用な材料を提供し、更には臨床においても、minimal residual disease の検出や、個別治療に向けた腫瘍細胞の *in vitro* 評価等への応用が期待できる。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	曹 東亮
試験担当者	主査 高橋雅英 豊岡伸哉 門松達治			
	指導教授 門松達治			

## (試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. 従来法ではできなかった、神経芽腫腫瘍組織からのSphere培養を可能にしたPrimNeuSという新しい培地の樹立法について。

2. PrimNeuSによって培養したSphereを用いて明らかにした、神経芽腫形成のメカニズムについて

3. PrimNeuSに関して、添加しているFBS中のどのような構成因子が重要だと考えられるかについて

4. PrimNeuSで培養した細胞の高い転移能について、どのような因子が影響を及ぼしたと考えられるかについて

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、分子生物学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。