HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膀胱癌の浸潤・転移メカニズムの検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	松本, 隆児
Description	配架番号：2168
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11686号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58831
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryuji_Matsumoto_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　　松本　隆児

	主査	教授	櫻木　範明
審査担当者	副査	教授	篠原　信雄
	副査	教授	佐邊　壽孝
	副査	教授	松野　吉宏

学 位 論 文 題 名

膀胱癌の浸潤・転移メカニズムの検討
(Studies on mechanisms of invasion and metastasis in bladder cancer)

本論文において申請者は、膀胱癌同所性移植転移モデルによる *in vivo* での検討、*in vitro* での機能解析、およびヒト膀胱癌手術検体を用いた検討で高悪性度癌である浸潤性膀胱癌の新たな治療標的候補分子として AKR1C1 および CRK を同定した。

審査にあたり、副査の松野教授から、研究１の親株は tdTomato-luc2 導入前の細胞なのか、それとも導入後の細胞なのかとの質問があり、導入後の細胞であることを回答した。同所性移植で生着した細胞が発光するのはわかるのだが、マウス内で壊死した細胞は発光するのかという質問があり、同所性移植モデルでは検証していないが、皮下移植モデルでは壊死部分の発光・蛍光は認めなかったと回答した。研究１のヒト膀胱癌手術検体を用いた検討で、qRT-PCR の原発巣と転移巣の症例数が異なるのは何故かとの質問があり、転移巣の RNA 抽出はできたが、それに相対する原発巣の RNA 抽出に失敗したことが原因であり、データを補完する意味で免疫染色を行い同一症例における原発巣と転移巣の AKR1C1 発現を検証したと回答した。研究２では、同所性移植モデルとして開腹で癌細胞を接種しているが、研究１と同所性癌細胞接種方法が異なるのはなぜか、また開腹しているのに膀胱内に癌細胞が拡がっているのは何故かとの質問があった。この質問に対して、経尿道的な同所性移植モデルは癌細胞生着率が低く実験系を組むのが難しいので下腹部小切開して膀胱粘膜と筋層の間に直接癌細胞を接種した旨、膀胱粘膜に上手く癌細胞が生着すれば膀胱内に癌細胞が拡がることはあり得ると回答した。また、開腹による癌細胞接種では、正確な浸潤過程を反映していない可能性もあり、今後の課題である旨を回答した。副査の佐邊教授からは、２つの研究をどういう順番で行ったのかとの質問があり、同時進行で研究を進めていたと回答したが、研究は一つにテーマを絞って突き詰めていった方が良かったのではないかと指摘された。また、原発巣の AKR1C1 発現は予後と関連するのか、他の癌種ではどのようなデータがあるのかを調べて研究を進めるべきであったのではないかと指摘され、今後提言に従い TCGA のデータベース等を用いて検討を加えたいと回答した。研究１の AKR1C1 はプロスタグランジンの代謝をあげるのかどうかとの質問があり、AKR ファミリーはプロスタグランジン D

からプロスタグランジン F の生成酵素として機能していると回答した。次に、主査の櫻木教授からは、膀胱癌の組織型はどのようなものがあり、本研究で使用した細胞株の組織型や悪性度について質問があった。膀胱癌の 90%以上が尿路上皮癌であり、そのほか小細胞癌や腺癌、扁平上皮癌があるが、本研究で使用した細胞株はいずれも頻度の高い尿路上皮癌の細胞株であり、いずれも高悪性度の浸潤性膀胱癌由来であると回答した。ヌードマウスを用いた膀胱癌同所性移植転移モデルの作製においてどのような点が大変であったかを質問され、経尿道的な癌細胞の接種は、過去の報告を参考に様々な方法を試したが、生着率が低くなかなか転移細胞を樹立することができなかったこと、下腹部小切開して膀胱壁に癌細胞を直接接種すれば、生着率はいいのだが EMT 関連分子の発現パターンが経尿道的モデルとは異なり転移関連の遺伝子解析には向かなかったと回答した。実際の臨床で膀胱癌はリンパ行性転移と血行性転移どちらが多いのか質問され、リンパ行性転移が多く、転移先の臓器は今回のモデルと同様に肺・肝・骨が多いと回答した。最後に副査の篠原教授から、研究 1 は主に UM-UC-3 細胞株を使用しているが、他の膀胱癌での発現はどうか質問があり、5 種類の浸潤性膀胱癌でウエスタンブロッティングを行ったところ 2 種類の細胞株で発現亢進していたと回答したところ、それらの細胞株を使ってさらに AKR1C1 の機能について検討することを勧められた。また、臨床応用を考慮するなら AKR1C1 と抗癌剤耐性についてより深く研究を進めたほうがよいと指摘し、今後そのような実験系を計画すると回答した。

このように、申請者はこれらの質問に対して、自らの研究結果や先行研究の研究成果に基づいて概ね妥当な回答を行った。

本論文は膀胱癌の浸潤・転移に関連した新たな分子に着目した研究で、その成果は今後の膀胱癌の治療成績改善に寄与する可能性がある。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、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充分な資格を有するものと判定した。