



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Pigment epithelium-derived factor inhibits the growth of human esophageal squamous cell carcinoma by suppressing neovascularization. [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	角谷, 昌俊
Description	配架番号 : 2128
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11646号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59122
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masatoshi_Kadoya_review.pdf, 審査の要旨



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 角 谷 昌 俊

主査 教授 武 富 紹 信
審査担当者 副査 教授 秋 田 弘 俊
副査 教授 平 野 聡

学 位 論 文 題 名

Pigment epithelium-derived factor inhibits the growth of human esophageal squamous cell carcinoma by suppressing neovascularization.

(PEDF は血管新生を阻害することにより食道癌の増殖を抑制しうる)

腫瘍増殖の過程で、固形癌が増大するには腫瘍血管新生は必須である。血管新生には既存の血管内皮細胞の増殖・遊走が関与する Angiogenesis と骨髄由来の Endothelial progenitor cell (以下, EPC) が新生血管へ動員される Vasculogenesis の 2 つの機序が存在する。これら腫瘍血管の新生を阻害することは、癌の増殖・転移の抑制につながると考えられる。

Pigment epithelium-derived factor (以下, PEDF) はヒト網膜色素上皮細胞の培養上清中から分離された多機能性分泌型糖タンパクである。網膜以外の正常組織にも広く発現し神経保護作用を有することが知られているが、1999 年に強力な血管新生阻害作用を併せ持つことが明らかにされた。所属研究室では PEDF の抗血管新生効果に着目し、これまで①ヒト膀胱癌切除症例において、PEDF の高発現群は肝転移再発が少なく予後良好であった。②ヒト膀胱癌細胞株を用いたマウス皮下移植実験において、PEDF の遺伝子導入が腫瘍の増大を有意に抑制したという研究成果を報告した。PEDF は固形癌で癌種を問わず有効である可能性があるが、難治性癌の 1 つである食道扁平上皮癌 (以下, 食道癌) に対する抗腫瘍効果は明らかにされていない。また、PEDF が Angiogenesis を阻害することはすでに報告されているが、Vasculogenesis に及ぼす影響は不明である。以上より、ヒト食道癌細胞株に対する PEDF の抗血管新生および抗腫瘍効果に及ぼす影響と、PEDF の vasculogenesis に及ぼす影響を検討することを目的とし本研究を行った。

まず、ヒト食道癌細胞株 7 株の培養上清中での内因性の PEDF 発現をスクリーニングし、そのうち内因性の PEDF 発現のない株 TE8 と内因性の PEDF 発現のある株 HEC46 を用いた。次に Lentivirus vector を用いてそれぞれの細胞株に PEDF を遺伝子導入し、PEDF 過剰発現株を樹立した。培養上清を用いた vitro における血管内皮細胞に対する増殖・遊走実験では、TE8 で PEDF を過剰発現させた場合、その培養上清は対照と比較し血管内皮細胞の増殖・遊走を抑制したが、HEC46 では対照と比較しほとんど差を認めなかった。マウス皮下への腫瘍移植実験においては、TE8 では PEDF の過剰発現により腫瘍内血管新生が阻害されて抗腫瘍効果が発揮され、多くの細胞がアポトーシスへ誘導されたが、HEC46 では、PEDF の過剰発現によっても腫瘍内血管新生が阻害されず、抗腫瘍効果も認められなかった。

Vasculogenesis の検討では、担癌マウス末梢血中の Peripheral blood mononuclear cell (以下,

PBMC) 数および PBMC 中の EPC 数をフローサイトメトリーにて解析し、腫瘍組織中での EPC 数の割合を蛍光免疫染色法にて検討した。PEDF の導入により両細胞株で末梢血中、腫瘍組織中ともに EPC が減少しており、PEDF が vasculogenesis を阻害する可能性が示された。しかし、各細胞株でその機序は異なると推察され、TE8 では PBMC 全体の末梢血への誘導が阻害され、HEC46 では EPC が骨髄から末梢血へ誘導される過程が直接的に阻害されるという 2 つのメカニズムの存在が考えられた。

以上より、PEDF は特に内因性の PEDF 発現のない食道癌に対しては、強力な血管新生阻害作用による抗腫瘍効果を発揮する可能性があり、このような症例を選択できれば、将来 Tailor made としての食道癌遺伝子治療への応用が期待されたと考えられた。

口頭発表に続き副査 秋田教授より、①PEDF の産生・分泌機序および分泌後の作用機序について、②実際のヒト正常食道上皮細胞での PEDF 発現の有無についての質問があった。続いて副査 平野教授より、①内因性 PEDF 発現の臨床的な意義、②内因性に PEDF を発現している細胞株での PEDF をノックダウンした研究について、③正常組織での PEDF、VEGF などの血管新生関連因子の相互作用についての質問があった。最後に主査 武富教授より、①研究で使用したそれぞれの細胞株での培養上清中の PEDF 発現量のチェックの有無、②Vasculogenesis を評価するための PBMC の採取時期、③担癌マウスでの PBMC 数増加と免疫反応との関係、④PEDF 導入後の PBMC 数の結果の差についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者はその主旨をよく理解した上で、自らの研究内容と文献的考察を加えてほぼ的確に回答し、当該領域に関する深い見識と研究遂行能力を有することを示した。

審査員一同はこれらを総合的に評価し、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と判定した。