HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the role of α-MSH-MC1R-MITF signaling pathway on TGF-β production in melanoma cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	林, えりか
Description	配架番号：2228
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12124号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61656
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Erika_Hayashi_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　　林　えりか

	主査　教授	佐邊　壽孝
審査担当者	副査　教授	野口　昌幸
	副査　准教授	北村　秀光
	副査　教授	田中　伸哉

学 位 論 文 題 名

Studies on the role of α-MSH-MC1R-MITF signaling pathway on TGF-β production in melanoma cells
(メラノーマ細胞における TGF-β 産生に関与する α-MSH-MC1R-MITF シグナル経路の役割に関する研究)

メラノーマは浸潤性、転移性が高い予後不良癌である。メラノーマは皮膚組織を発生母体とするが、その高い浸潤性ゆえ外科的切除は困難であり、化学療法にも抵抗性を示す。現行療法における予後不良から、新しく開発される免疫療法などの優先的治験対象ともなっている。
TGF-β1 は様々な作用を示す。悪性度の進展した癌細胞に対しては、EMT (epithelial-mesenchymal trasition)を誘導し、浸潤性や転移性を促進する場合がある。一方、免疫系に対しては抗炎症性（免疫抑制）に作用する。メラノーマ患者の血中 TGF-β1 濃度は健常人に比べ高いこと、また、メラノーマ患部における TGF-β1 の高発現が患者低生存率と相関することが報告されている。TGF-β1 は、癌の環境細胞、並びに、メラノーマ細胞自身の両者によって産生され得る。
TGF-β1 は Treg にも作用することが報告されており、メラノーマ細胞における TGF-β1 の産生機序の詳細な理解が待たれる。また、メラノーマ患部やその周辺における TGF-β レベルと患部に集積した Treg 活性との関連性に関する研究は、最近認可された抗 PD1/PDL1 抗体療法の有効性評価においても主要な研究課題である。
本研究では、メラノーマ細胞における TGF-β1 産生機序を明らかにしようとした。メラノーマ細胞には、melanocyte stimulating hormone α (α-MSH)に対する受容体である melanocortinreceptor 1(MC1R)が発現しており、α-MSH 刺激は TGF-β1 産生を促す。既に、MC1R はその細胞内シグナル伝達において、ERK1/2、p38、MEK 等を活性化すること、メラノーマ細胞核内では、TGF-β1 遺伝子発現に関与する転写因子 MITF が発現していることが知られている。本研究ではこれらが、マウスメラノーマ細胞 B16 細胞を用い、MC1R 刺激による TGF-β1 産生に、これらのシグナル因子や転写因子が関与するかを検討し、α-MSH 刺激から TGF-β1 産生に至るシグナル経路の一端を明らかにしたものである。また、B16 細胞での MC1R 発現量を改変することに

よって、TGF-β1 産生が抑制された細胞株を作成し、これをマウス個体へ移植した後、癌部に集積するリンパ球成分における Treg の割合の測定を行ない、集積する Treg 細胞の数に関しては、両者に差異はないことを観察した。しかしその際、癌部における TGF-β1 の量的測定や、Treg 活性の測定は行われておらず、このことは意味をなさない観察にとどまった。

審査にあたり、副査の田中教授から、メラノーマにおける driver 変異である BRAF(V600E)と TGF-β1 産生、さらには、BRAF(V600E)変異と今回見出された経路 α-MSH 刺激から TGF-β1 産生に至る経路との関係性に関して質問があり、申請者はその点は解析していないと回答した。また、病理学的検討が欠除していることも指摘された。副査の北村准教授からも、もっと多義にわたる解析と検討の必要性が指摘された。副査の野口教授からは、発表に際して単に原稿を読むのではなく、聴衆に分からせるという態度をもってなすべき旨、指摘があった。データ処理に関しても、それぞれの実験回数の記載もなく、研究者としての基本事項を十分に取得していない旨、指摘があった。最後に、主査佐邊教授からは、今回見出した経路に関して、ヒトメラノーマにおいてどの程度普遍性があるのか、病理学的な検討が全くなされていないこと、また、Treg 測定においても、単に TIL における Treg の比率を FACS で測定しているに過ぎず、それでは意味をなさない旨、指摘があった。

本論文は、このように学問的には高い評価は得られないものの、大学院のトレーニングとしてはきっちりとしたものである。また、既に論文が受理されていることから、大学院課程における取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位に相当すると判定した。