



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	食道癌，胆管癌，膵癌，肺癌におけるWilms tumor 1の発現解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	真木，健裕
Description	配架番号：2319
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12578号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65937
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Takehiro_Maki_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 真木 健裕

	主査	教授	野口	昌幸
審査担当者	副査	准教授	北村	秀光
	副査	教授	武富	紹信
	副査	教授	佐邊	壽孝

学 位 論 文 題 名

食道癌・胆管癌・膵癌・肺癌における Wilms tumor 1 の発現解析
(Expression analysis of Wilms tumor 1 in esophageal, bile duct, pancreatic, and lung cancer)

本研究は、がん免疫療法において有望な標的と考えられている WT1 タンパクの固形癌における解析方法（免疫組織化学染色法）を確立することを目的としている。研究の結果、WT1 に対する免疫組織化学染色において、核染色は WT1 発現を反映する可能性が高い一方、細胞質染色は WT1 発現を反映しない非特異反応である可能性が示唆された。さらに、食道癌・胆管癌・膵癌・肺癌において核染色がほとんど観察されないという結果が提示された。これらの研究結果に基づき、申請者は内外胚葉由来の固形がんに対する WT1 標的がん免疫療法の理論的根拠を再検証する必要があると結論付けた。

学位論文内容の口頭発表後、副査の佐邊壽孝教授より「一般的に、ある遺伝子発現に関して mRNA 発現とタンパク発現が必ずしも正相関するとは限らない。がんは特殊な分子生物学的反応を引き起こす可能性があり、特定の遺伝子発現に対して多面的にアプローチしても整合性のある結果が得られるとは限らない。従って本研究結果から導かれる結論として、細胞質染色を非特異反応とみなし、固形がんに対する WT1 免疫療法を否定するのは **overstatement** であろう。」との見解が述べられた。申請者はこの意見に賛成し、本研究の考察は科学的思考に基き導かれる一見解であると述べた。続いて、副査の武富紹信教授から WT1 が核と細胞質の間を移行するシステムについて質問があった。これに対し申請者は「WT1 には少なくとも 2 つの核移行シグナルが同定されているが、がんによる特殊な分子生物学的な振る舞いにより、結果的に WT1 が細胞質に存在する可能性は否定できない。WT1 における核と細胞質間の移行に関してそれ以上の知見は得られていない」と回答した。加えて武富紹信教授から、WT1 特異免疫療法を否定する結論を導くには細胞質染色を呈する細胞に対する WT1 免疫療法の特異的な作用を精査する必要があるとの指摘があった。続いて、副査の北村秀光准教授より、悪性腫瘍に関連して WT1 発現を制御するメカニズ

ムについて質問があった。これに対して申請者は「中胚葉由来がんにおいては WT1 遺伝子の変異が報告され、内外胚葉由来のがんにおいては野生型 WT1 の過剰発現が報告されているが、これ以上の WT1 を制御する他因子の存在などの確固とした知見は得られていない。」と回答した。最後に、主査の野口昌幸教授より、本研究において Western blotting によって得られる各プロテインバンドの強度を定量化するにあたり標準化をどのように行っているかとの質問があり、申請者は、陽性対照のプロテインバンドを基準として定量化していると説明した。加えて野口昌幸教授より、変異 WT1 の機能に関する質問があり、これに対して申請者は、変異 WT1 タンパクは正常 WT1 タンパクを阻害するという意味で dominant-negative であるとする報告があると述べた。さらに野口昌幸教授より、融合タンパクの実験における GFP の緑色蛍光が細胞質だけでなく核にも認められるとの指摘があり、これに対して申請者は、GFP は核または細胞質に局在すると表現するのが最も適切であると述べた。

いずれの研究内容に対する質問に対しても、申請者はその主旨を的確に理解し、文献的考察を混じえて適切に回答した。また、今後の課題や展望についても、逐次的に解決すべき問題を明確に挙げ、研究結果の応用について自らの考えを示すことができた。

本研究は、固形がんにおける WT1 発現を検査する方法として免疫組織化学染色法を科学的に検証した。その結果、WT1 抗体による細胞質染色は非特異染色である可能性が示唆され、固形がんに対する WT1 特異がん免疫療法を考察する上で重要な知見と考えられる。

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）の学位を授与されるのに十分な資格を有すると判定した。