



Title	癌悪性度進展の分子基盤の解明〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	大塚, 勇太郎
Description	配架番号 : 2366
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12987号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70814
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yutaro_Otsuka_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 大塚 勇太郎

審査担当者	主査	教授	近藤	亨
	副査	教授	小林	弘一
	副査	教授	渡邊	雅彦
	副査	教授	野口	昌幸

学 位 論 文 題 名

癌悪性度進展の分子基盤の解明

(Molecular Bases of The Cancer Malignancy Development)

本学位論文は、EMT (Epithelial Mesenchymal Transition) とそれに伴い形成される Arf6 を中心としたシグナル経路が、腫瘍細胞の悪性度進展に寄与することを報告したものである。特に、Arf6 経路構成タンパク質である EPB41L5 の高発現と頭頸部扁平上皮癌の予後不良、Arf6 経路を悪性度進展に利用する乳癌モデルマウスの同定、EMT 過程におけるミトコンドリアダイナミクスに関して報告した。研究手法は、基本的な生化学実験、酸素消費量測定、蛍光顕微鏡観察、免疫組織化学実験的、大規模データベース上のデータを対象とした *in silico* 解析と多岐にわたる。癌的 EMT に付随して起こる現象を足掛かりとして、細胞機能変化の本質に迫る可能性を持つ研究である。

審査にあたり、副査の小林弘一教授より Arf6 経路構成タンパク質群の高発現と異常活性化のメカニズムについて、特に乳癌においてはサブタイプ分類との相関があるか否かという質問があり、申請者は乳癌においてはサブタイプ分類に関わらず一定の割合で Arf6 経路が活性化するとし翻訳調節によるタンパク質レベルの発現制御機構や Arf6 の局在調節もここに関与すると回答した。次に、EMT 過程におけるミトコンドリア分裂の要因についての質問に対して、EMT を引き起こすシグナル系からミトコンドリア動態調節に至る詳細なメカニズムは不明であるが、細胞レベルの要請として OXPHOS (Oxidative Phosphorylation) 活性を維持したままミトコンドリアを運動方向先端に輸送する必要性があると回答してした。これに対してシングルセル解析系を構築すると新局面を開けるのではとの助言があった。

続いて副査の渡邊雅彦教授より、頭頸部扁平上皮癌における悪性度進展に EPB41L5 以外のタンパク質が関与する可能性について質問があり、申請者は EPB41L5 以外の Arf6 経路構成タンパク質群の関与と Rac1 や Cdc42 など他の低分子量 G タンパク質を中心とした経路の関与の可能性を回答した。次に、マウスモデルの検討の際の AMAP1 染色強度と個体差の取り扱いについて質問があり、申請者は実験法の限界を理解したうえで主張できる内容を慎重に検討していると回答した。ミトコンドリア形態変化とその機能調節メカニズムについて質問について、これまでの文献的知見としてミトコンドリア分裂がクリステの平坦化を引き起こすこととミトコンドリア分裂前の段階で OXPHOS を上昇もしくは維持する機構が発見できれば新規かつ重大な発見となりうると回答した。最後に、ミトコンドリア形態変化が頭頸部扁平上皮癌の治療抵抗性に関与する質問に対して、検討すべき点であるが EMT を引き起こすモデルとして妥当な頭頸部扁平上皮癌細胞株が存在しないことを回答した。

副査の野口昌幸教授からは、頭頸部扁平上皮癌の解析に関して実験系の限界を確認する必要があること、Arf6 ノックアウトマウスとの掛け合わせを行ってはどうかという助言があった。これらに対し申請者は、今後の解析として必要であるが時間的制約があったと回答した。次に、ミトコンドリア形態変化が細胞機能を変化させるメカニズムについての質問に対して、申請者はミトコンドリア形態変化が細胞の代謝経路を変化させ細胞の機能変化を制御することを文献的知見から例示した。

最後に主査の近藤亨教授から化学放射線治療抵抗性を確認する実験系に関する助言があった。次に EPB41L5 を高発現している正常組織は何かという質問があり、申請者は血球系細胞での発現が報告されていること、今回の解析ではその可能性を病理学的観察により排除していると説明した。今後の展望として MMTV-PyMT マウスと TWIST 経路との関係を検討すること、MMTV-PyMT マウスの血中循環腫瘍細胞における EMT マーカー発現状況と Arf6 経路活性化状況を検討すること、Arf6 経路と幹細胞性獲得の連関を検討することの提案があった。最後に TGF- β 刺激により細胞周期へ影響があるかについて質問があり、申請者は NMuMG 細胞では細胞周期の停止が起こり、A549 細胞では細胞周期の停止が起こらないと回答した上で、いずれの細胞においてもミトコンドリアの分裂が起こることから EMT 過程におけるミトコンドリア動態と細胞周期の連関の可能性は低いと回答した。

全ての質問に対して申請者は十分な文献的知見と大局的視点をもって適切に回答した。また本研究で解明した研究成果の意義、今後解明すべき点を明確に理解し、次段階の研究指針や応用の方向性も十分把握していた。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し大学院過程における研鑽や取得単位なども併せて申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。