HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Tumor endothelial cells survive in lactic acidosis via the activity of pH regulators [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	ANNAN, DORCAS AKUBA-MUHYIA
Description	配架番号：2426
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13291号
Issue Date	2018-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71898
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Dorcas_Akuba-Muhyia_Annan_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　Dorcas Akuba-Muhyia Annan

審査担当者
主査　教授　山　下　啓　子
副査　教授　近　藤　　亨
副査　教授　小　林　弘　一
副査　教授　田　中　伸　哉

学 位 論 文 題 名

Tumor endothelial cells survive in lactic acidosis via the activity of pH regulators
（乳酸アシドーシス環境における pH 調節機構を介した腫瘍血管内皮細胞の生存）

腫瘍細胞は酸性環境内でも生存し続ける機構を持つが、酸性環境内の腫瘍間質細胞の代謝機構については殆ど未明である。申請者らは腫瘍血管内皮細胞もまた酸性環境内で生存し血管新生に貢献していることに着眼し、腫瘍血管内皮細胞と正常血管内皮細胞の代謝経路を比較した。腫瘍血管内皮細胞は解糖系が亢進しており乳酸酸性環境において増殖できること、そのメカニズムとして MCT4、CAII などの pH 調節因子の発現亢進が関与していることを示した。さらに腫瘍細胞から分泌される VEGF により腫瘍血管内皮細胞の CAII の発現が亢進することを示し、がん微小環境内において血管内皮細胞は正常とは異なる代謝経路が活性化していることを明らかにした。

審査にあたり、副査の小林教授から、なぜ実験対象としてヒトメラノーマ細胞を用いたのか質問があった。副査の近藤教授、田中教授からも同様の指摘があり、申請者は今回は腫瘍血管内皮細胞の分離と培養に成功したメラノーマモデルでのみ行ったが将来は他の癌腫モデルを用いて解析を予定していると回答した。

続いて副査の近藤教授から、腫瘍血管内皮細胞の由来について質問があった。申請者は今回用いたモデルにおいて腫瘍はヒト、血管内皮細胞はマウス由来であり、種特異的な抗体やゲノム FISH プローブを用いることにより血管内皮細胞が腫瘍由来かどうか判断できること、今回のモデルでは腫瘍血管内皮細胞は腫瘍由来ではなく、周囲の正常血管内皮細胞が微小環境による影響を受けて異常になったものと考えていると回答した。次に、実験動物としてなぜヌードマウスを使用したか質問があった。申請者は NOD SCID マウスを用いることなく腫瘍が生着したこと、対照として正常血管内皮細胞を皮膚から分離しているがヌードマウス皮膚がより純度の高い正常血管内皮細胞の分離などで有利であったためと回答した。Acetazolamide 投与のマウス実験において薬物の血中濃度を測定したかという質問には、申請者は本剤は既に臨床で使用されていること、マウス動物モデルにおいては抗腫瘍効果の解

析にも用いられており in vitro でのみ使用している阻害剤ではないことをあげて、今回は測定しなかったと回答した。

続いて副査の小林教授から、MCT4 の阻害実験を行ったか質問があった。申請者は MCT4 は in vitro におけるその阻害が腫瘍血管内皮細胞の増殖抑制をもたらさなかったため腫瘍培養上清を用いた実験に MCT を含めなかったと回答した。腫瘍血管内皮細胞は正常な血管内皮細胞にもどるのかについての質問には、腫瘍血管内皮細胞の特性は長期間維持され、その原因としてエピジェネティック異常があることを既に報告していると回答した。

続いて副査の田中教授から、血管内皮細胞の siRNA を用いた実験に 10% FBS 用いた理由について質問があった。申請者は血管内皮細胞の増殖には FBS の存在が必要であり、増殖抑制をみるためにはコントロールの条件で細胞増殖がみられることが不可欠であったと回答した。pH 調節因子の発現に関して蛋白の発現を検討したかとの質問には、抗体が市販されているものはウェスタンブロッティングを行った、また血管内皮のうち静脈由来と動脈由来の間で CAII の発現に差があったかとの質問には今後解析を進めたいと回答した。in vitro ではメラノーマ細胞を用いているが臨床検体として腎癌の組織を用いた理由についての質問には、申請者は検体の入手が可能であったためと回答した。今後は皮膚科、形成外科との共同研究を進めてはどうか、また血管新生が豊富な肝癌や脳腫瘍などにおいても解析をしてはどうかというコメントがあり、申請者も複数の癌腫における解析を計画したいと答えた。

最後に主査の山下教授から”lactosis”は一般的に用いられている単語なのかについて質問があった。申請者は 2 つの論文で用いられているが一般的ではないため今後この単語の使用について注意を払いたい旨回答した。また実際の診療では抗 VEGF 薬は単独では腫瘍縮小効果を示すことは難しく化学療法薬の併用が必要であるが、その理由として今回の研究から推測されることについて質問があった。申請者は薬剤耐性の問題で VEGF 以外の血管新生因子の産生亢進もそのひとつの理由であること、また本研究結果から血管内皮細胞が MCT1、MCT4 を使い分けながらがん微小環境変化に適応し耐性を獲得している可能性があると回答した。

本研究により腫瘍血管の代謝異常が明らかになり、これらの代謝関連分子は血管新生阻害剤の新しい標的として応用が可能であることが示唆された。

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。