



|                     |                                                                                                                     |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | 原発性肺癌におけるMelanoma antigen family A4発現の細胞内局在と予後予測に関する研究〔論文内容及び審査の要旨〕                                                 |
| Author(s)           | 藤原, 晶                                                                                                               |
| Description         | 配架番号 : 2434                                                                                                         |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                               |
| Degree Name         | 博士(医学)                                                                                                              |
| Dissertation Number | 甲第13378号                                                                                                            |
| Issue Date          | 2018-12-25                                                                                                          |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/72403">https://hdl.handle.net/2115/72403</a>                                   |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                     |
| File Information    | Aki_Fujiwara_review.pdf, 審査の要旨                                                                                      |



(様式 16)

## 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 藤原 晶

|       |    |    |       |
|-------|----|----|-------|
|       | 主査 | 教授 | 白土 博樹 |
| 審査担当者 | 副査 | 教授 | 田中 伸哉 |
|       | 副査 | 教授 | 松野 吉宏 |
|       | 副査 | 教授 | 秋田 弘俊 |

## 学 位 論 文 題 名

原発性肺癌における Melanoma antigen family A4 発現の細胞内局在と予後予測に関する研究  
(Prognostic value of MAGEA4 in primary lung cancer depends on subcellular localization and p53 status)

本研究は、MAGEA4 タンパク発現の検出方法の標準化を行い、特異的な検出条件と非小細胞肺癌における MAGEA4 の発現率を明らかにした。非小細胞肺癌の細胞株では 50%、切除検体では 25.4%に MAGEA4 の発現が認められた。強制発現株において MAGEA4 は細胞質に局在し、アポトーシスを有意に減少させた。非小細胞肺癌切除検体 240 例において MAGEA4 が核のみ、または細胞質のみで発現している群は非発現群と比較して有意に予後不良であった。また、MAGEA4 が核で発現している場合、p53 染色陰性例は有意に予後不良、対して p53 染色陽性例は予後良好であったことから、MAGEA4 の生物学的機能が細胞内局在と p53 の状態に依存することを示した。

学位論文内容の口頭発表後、主査の白土博樹教授より術後生存曲線の解釈について質問があり、申請者は術後補助治療症例が含まれており生存曲線と腫瘍のアポトーシスの起こりやすさが必ずしも比例しないと述べた。副査の秋田弘俊教授より、MAGEA4 が他のどのような分子との interaction が報告されているのか質問があった。申請者は、MAGEA4 が p53 タンパクの DNA 結合部位を立体的に阻害することを示した論文があること、p53 以外のタンパクとの相互作用の報告は見い出せなかったと回答した。さらに同教授より p53 との相互作用に関する過去の報告について質問があり、申請者は過去の報告における p53 は野生型であり、変異型 p53 と MAGEA4 の interaction について検討した報告はないことを説明し、本研究が MAGEA4 と p53 の免疫染色を同じ対象に行って生存曲線を検討した初めての報告であると述べた。次に、副査の松野吉宏教授より MAGEA4 のアポトーシスへの関与をどう解明できるかとの質問があった。申請者は、アポトーシス因子の発現検討、野生型のみを検出する抗 p53 抗体を用いた検討、MAGEA4 の細胞内局在変化の検討などにより解決できる可能性があるとして述べた。この点について同教授より、

タンパクの局在変化については固定標本における免疫染色では限界があり, *in vitro* での検討が必要であるとの指摘があった. 続いて同教授より抗 MAGEA4 抗体 MCV-1 についての先行論文について, 過去の報告で利用されている 57B や 6C1 と比較した精度の違いについて質問があった. 申請者は, MCV-1 の精度を示した先行論文はなく共同研究者から提供された情報に基づいて記載していること, また 57B や 6C1 を用いた切除検体の免疫染色は行なっておらず, 発現率の比較ができないことを述べた. さらに, 総合的な結果では MCV-1 は 57B や 6C1 と比較して精度に大きな違いはないこと, 本研究は抗体の優位性ではなくいかなる抗体を用いた場合でも適切な **validation** を行うべきこと主張するものであると述べた. 次に, 副査の田中伸哉教授より本研究の遺伝子構成について質問があり, 申請者は, 生細胞における MAGEA4 の細胞内局在を検討した実験では GFP との融合遺伝子を導入したがそれ以外の実験では IRES 配列を介在させた遺伝子を導入したと回答し, その理由は融合により MAGEA4 タンパクの構造変化が起きるためと説明した. さらに, **wild type p53** と **mutant p53** それぞれの強制発現株においてアポトーシス分析を行わなかったのか質問があり, 申請者は時間的制限があった事情を説明した. また, 同教授から MAGEA4 の細胞内局在の意義についての質問があり, 申請者は MAGEA4 がアポトーシスに関わるのであれば核で発現しているはずであり, 内因性の MAGEA4 の局在変動を示す必要があると述べた. 最後に, 主査の白土博樹教授より学位論文の修正点について指摘があり, 申請者はその通りに修正する意志を伝えた.

いずれの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交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.

本研究は免疫染色施行時の抗体の **validation** の必要性を示しており, かつ **p53** と関連した MAGEA4 の生物学的機能の解明の一助になることが期待される.

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に十分な資格を有すると判定した.