HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	EMT-driven cancer malignancy: what is the fundamental matter? [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	半田, 悠
Description	配架番号：2475
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13461号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74736
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Haruka_Handa_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　半田　悠

	主査	教授　廣瀬　哲郎
審査担当者	副査	教授　畠山　鎮次
	副査	教授　秋田　弘俊
	副査	教授　近藤　亨

学 位 論 文 題 名

EMT-driven cancer malignancy: what is the fundamental matter?

（EMT とがん悪性度：何が根本的事象なのか。）

本学位論文は、EMT（Epithelial Mesenchymal Transition）を中心とした 3 つのテーマから成り立ち，①Arf6-AMAP1 経路とアメーバ型浸潤，②AMAP1 タンパク質の発現制御機構，と③EMT におけるミトコンドリアダイナミクスとその解析について報告したものである。研究手法は，生化学実験，遺伝子導入やサイレンシングなど分子生物学的実験，細胞生物学的な実験，酸素消費量測定，蛍光顕微鏡観察，大規模データベースを用いた in silico 解析と多岐にわたる。EMT 変化を足掛かりとし，エピゲノムからミトコンドリア機能にいたるまで既存概念を修正するような新たな生物学的発見につながる研究である。

審査にあたって，副査の畠山教授より，使用している BJ 細胞の p53 発現やステータスに関する質問があった。申請者は，BJ 細胞は正常型 p53 を有しているが，発現量は非常に少ないことを回答した。また，新規タンパク質が EMT による発現制御を受けているのであれば，EMT 関連転写因子などのサイレンシングで発現抑制を戻せるのかといった質問があった。これについて，申請者は JASPAR などのシステムを用いた in silico 転写因子解析で，候補となる転写因子群を同定し，その一部をノックダウンさせるなどの実験を行っていると回答した。

次に副査の秋田教授から，アメーバ型浸潤に関する実験について述べるよう指示があり，申請者は，Arf6 経路に関連するタンパク質群をノックダウンさせると，アメーバ用浸潤が抑えられる旨をスライドにて回答した。また，がん死亡率の年齢調整別死亡率について質問があり，申請者は，年齢調整をすると癌は減少傾向にあることを述べた。また，メバロン酸経路亢進による Arf6 経路をスタチンを使ってブロックすることは臨床において有効になりえるかどうかとの質問があり，申請者は，既に報告した論文において，in vitro 系ではス

タチンと他の薬剤の併用により差が出ること，また，これに関するマウス実験系を立ち上げていることを回答した。

さらに副査の近藤教授より，アメーバ型浸潤を駆動する分子メカニズムについて質問があり，申請者は Rho や Rac といった低分子量 G タンパク質が関与し，静水圧を利用し細胞膜を出芽させることで浸潤していくと回答した。また，ミトコンドリアと OXPHOS について，癌細胞では解糖系で ATP 産生をしているといわれているが，そのあたりの解釈について質問があり，正常細胞で OXPHOS が亢進し，癌細胞では OXPHOS の亢進がみられないことから，癌細胞では解糖系に依存しているという解釈が当てはまると回答した。EMT と転移に関して，原発巣から転移先になるべき所へ，エクソソームなどを分泌し，土壌を耕してから転移するといった，EMT が必ずしも転移に必須ではないモデルが報告されているが，これと本研究における EMT―転移の関係はどのように考えているかという質問があった。これに対し，申請者は，Arf6 経路がエクソソーム分泌に関与しているかどうかについては他のグループが実験をしていると回答した。

最後に，主査の廣瀬教授からは，AMAP1 発現制御にマイクロ RNA が関与する実験系で，ゲノムレベルで AMAP1 mRNA のマイクロ RNA 結合配列を変化させる実験を加えることで，さらなる実証が可能になるとのアドバイスがあった。また，タンパク質の発現制御にはマイクロ RNA 以外の関与も考えられるが，それについてはどう考えているかとの質問があり，申請者は AMAP1 のメッセンジャーRNA には 5′TOP 配列があり，mTOR の下流にもあることから，マイクロ RNA と mTOR 活性のバランスにより発現の強弱が生まれてくるのではないかと回答した。さらに AMAP1 と結合するが，mRNA 量の調節に関わらないマイクロ RNA について考えがあるかという質問があり，申請者は，mRNA 分解のために結合している一方で転写促進が強くなるのではないか，さらにほかの因子が介在している可能性を述べた。その際，結合予測だけではなく，RNA-RNA の塩基配列による結合強度なども調べるとよいという助言があった。マイクロ RNA の定量実験で，その前駆体量を図ると，さらにデータの確証性が高まるとの助言があった。ミトコンドリアダイナミクスに関して，新規タンパク質の種の保存性はどうかということが質問に上がり，種をなるべく統一化するとよいという助言があった。

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。