



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	通常型膵癌の浸潤、転移メカニズムに関する分子生物学的研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	古川, 聖太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14320号
Issue Date	2020-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/80219
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shotaro_Furukawa_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 古川 聖太郎

主査 教授 武富 紹信
審査担当者 副査 教授 園下 将大
副査 教授 近藤 亨
副査 教授 田中 伸哉

学 位 論 文 題 名

通常型膵癌の浸潤、転移メカニズムに関する分子生物学的研究

(The molecular biological studies on the mechanisms of invasion and metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma)

本研究は、通常型膵癌において *TP53* 変異が低分子量 G 蛋白質を起点とするシグナル伝達経路 ARF6-AMAP1 経路を駆動し、膵癌細胞の浸潤および転移を促進すること、また、ARF6-AMAP1 経路を構成する蛋白が新規治療標的分子になりうること、さらに、スタチン系薬剤により ARF6 活性化が抑制され、膵癌細胞の浸潤を抑制し、化学療法抵抗性を改善することを明らかにしたものである。

審査にあたり、まず副査の田中伸哉 教授から、ARF6 の機能について質問があった。申請者は、インテグリンや PD-L1 といった細胞表面発現蛋白のリサイクリングを行っている」と回答した。次に、ARF6 は膵臓のみに発現している蛋白かという質問があり、申請者は ARF6 はあらゆる臓器に発現する蛋白で膵臓に特に発現が亢進しているというものではないと回答した。また、*ARF6* 遺伝子ノックアウトマウスに関する報告はないかという質問があったが、申請者は *ARF6* 遺伝子ノックアウトマウスは胎生致死のためマウスを使用した実験報告はないと回答した。さらに、PDGFR β 阻害薬を使用した浸潤・転移阻害については実験していないかという質問があり、申請者は今回の研究では PDGFR β 阻害薬を使用した実験は行っていないが、イマチニブを用いた PDGFR β 阻害により膵癌細胞の浸潤・転移を抑制することが *in vivo* で示されている (Weissmueler et al., 2014) ものの臨床試験レベルではその効果が否定されていると回答した。

次に、副査の近藤亨 教授から、PDGFR β の活性化が膵癌の浸潤・転移を促進するとのことだが、PDGF 刺激は膵癌発生のどの時点から起こるのかという質問があり、申請者は *TP53* 変異が PDGFR β の発現を亢進させることで、浸潤・転移を促進することが示されているため、PDGF 刺激が有意になるのは *TP53* 変異が起こった後、すなわち PanIN3 以降

と考えられると回答した。また、転移実験で、マウス尾静脈に癌細胞を注入すると肝臓などの肺以外の臓器には集積しないのかという質問があった。これに対し、尾静脈血は大循環系に入り、心臓に戻った後に肺に流入して集積すると考えられるため、ほとんど肝臓には分布しないと思われると回答した。さらに、転移実験の初日にすでに肺に集積しているように見えるがどのように解釈すればよいかと質問があった。申請者は、初日では肺に癌細胞が集積したことを確認したもので、転移巣を見ているのではないこと、また、論文の図中には肺の生物学的発光強度を経時的に示しており、静注後 2~3 日で両群とも発光強度が下がるが、その後 Irr 群のみ発光強度が再上昇してくることが確認されたと回答した。それに対して、単純に shEPB41L5 の viability が落ちただけではないかとの質問があったが、in vitro で Irr と shEPB41L5 を継続培養しても viability に有意差が出ないことを確認していると回答した。

次に、副査の園下将大 教授から論文内の図で PDGF-BB 刺激による浸潤活性の上昇を示しているが、これは刺激の結果としての細胞増殖を見ているだけではないかと質問があった。申請者は今回の研究では PDGF-BB 刺激と細胞増殖の関係については実験していないため否定できないと回答した。次に、TP53変異が細胞非自律的な EPB41L5 発現を誘導すると記載されているが、細胞非自律的かどうかは今回の実験では示されていないため不適切ではないかとの指摘があり、申請者は適切な表現に修正すると回答した。また、H スコアの中央値で 2 群に分けているが、その分け方では恣意的ではないかと質問があった。申請者は中央値の群分けが恣意的とは思わないと回答した。さらに、Simvastatin 1 μ M を投与すると生存率に差はない事を示す図と、80%程度に生存率が低下する図があるが、矛盾するのではないかと質問があった。申請者は、前者では Simvastatin 処理後 16 時間後、後者では 72 時間後の生存率を見ているため結果の相違があると回答した。続いて、Simvastatin の内服で血中濃度はどの程度になると質問があった。申請者は根拠となるデータを持っていないため、論文に追加記載すると回答した。

最後に主査の武富紹信 教授から、免疫染色で活性化 ARF6 を検出する方法はないかと質問があったが、免疫染色で使用実績のある抗活性化 ARF6 抗体がないため今回は評価対象としなかったと回答した。次に、膀胱癌患者の臨床病理学的背景と免疫染色結果を用いた単変量解析から多変量解析に至る過程で、免疫染色結果から AMAP1/EPB41L5 共高発現のみ独立変数として採用した理由は何かと質問があった。申請者は PDGFR β 、AMAP1、EPB41L5 の間には非常に強い相関関係があり、有意差のある項目をすべて独立変数とすると多重共線性の問題が発生するため、AMAP1/EPB41L5 共高発現のみ採用したと回答した。最後に今回の研究では、浸潤・転移メカニズムについては分子メカニズムが示されているが、化学療法抵抗性についてはメカニズムが示されていないため、論文題目の「化学療法抵抗性メカニズム」は削除すべきではないかとの示唆があり、申請者は題目を変更すると回答した。

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十分な資格を有するものと判定した。