HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膵臓癌における線維化及びPD-L1の亢進に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	蔦保, 暁生
Description	配架番号：2648
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14708号
Issue Date	2021-09-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/83034
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Akio_Tsutaho_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　蔦　保　暁　生

主査　　教　授　武　冨　紹　信
審査担当者　副査　　教　授　谷　口　浩　二
副査　　准教授　加　藤　徳　雄

学 位 論 文 題 名

膵臓癌における線維化及びPD-L1の亢進に関する研究
（The studies on the elevated levels of fibrosis and PD-L1 of pancreatic cancer）

本研究では，先行研究により示されていた膵臓癌の浸潤・転移におけるARF6-AMAP1経路との関わりにおいて，マウス皮下腫瘍モデルとヒト膵臓癌切除検体を用いた検討により，AMAP1が膵臓癌の線維性間質の亢進に関与することと，AMAP1とPD-L1の発現に関連があることを明らかにしたものである．

審査にあたり，まず副査の谷口浩二教授から，実験で使用したKPC細胞の背景となる遺伝子改変マウスが実験で用いたC57BL/6と同じものであるかという質問があった．申請者はKPC細胞は他施設から分与されたものであり，確認すると回答した．また，BALB/Cマウスとヌードマウスの記載が混同している部分があり，修正が必要であるという指摘があり，申請者は適切に修正すると回答した．KPC細胞においてコントロール群とshAMAP1群間で細胞増殖能に違いはないとのことであったが，細胞のmigrationの検討は行なったかという質問があった．申請者は細胞のmigrationの検討は行なっていないと回答した．また，予備実験においてはp-FAKとAMAP1を用いた検討を行っているが，実験途中からAMAP1のみに対しての実験に切り替わっている理由について質問があった．申請者は，本研究は過去に報告されていた膵臓癌における線維化とFAKの関連を背景に，FAKとAMAP1が共に細胞接着斑形成に必須であるという同様の役割を持つことから，AMAP1がFAKと同様に膵臓癌における線維化に寄与しているのではないかいという仮説をもとに行なっており，ヒト膵臓癌切除検体を用いた検討で，p-FAKには線維化との関連は有意差がなく，AMAP1では有意差を認めたことから，AMAP1はp-FAKと比較して線維化に強く関連するものと考え，以降の実験はAMAP1に焦点を当てて行ったと回答した．また，KPC細胞においてコントロール群とshAMAP1群で免疫細胞の変化はあったかという質問があった．申請者は，マウス皮下腫瘍モデルにおいて腫瘍摘出後にCD8とCD4の免疫染色を行い，shAMAP1群ではCD8とCD4が増加する傾向にあったと回答した．免疫細胞の変化のメカニズムはどういったものを想定しているのかという質問があった．申請者は，免疫

細胞を誘導するようなケモカインやサイトカインを同定する検討は現在施行中であり，詳細は明らかになっていないと回答した．KPC 細胞においてコントロール群と shAMAP1 群では，PD-L1 の局在はタンパク質レベルで異なるものか RNA レベルで異なるものかという質問があり，申請者はタンパク資質レベルで異なるものであることを想定していると回答した．

次に副査の加藤徳雄准教授から，過去の報告されていた p-FAK と膵臓癌における線維化の関連が，今回の研究では認められなかった点について質問があった．申請者は，過去の報告は遺伝子改変マウスを用いたものであり，今回の研究はヒト膵臓癌切除検体を用いて行っており，その背景の違いによる可能性があり，また，有意差は認めないが p-FAK が高発現している群では線維化も高度である傾向は認めていたと回答した．ヒト膵臓癌切除検体を用いた研究において，AMAP1 が高発現している群にリンパ節転移や術後補助化学療法施行患者が多いといった偏りは見られなかったのかという質問があった．申請者は，検討の結果，偏りは見られなかったと回答した．また，本研究の結果から，今後どういった膵臓癌に対する治療戦略を考えているかという質問があった．申請者は，ARF6-AMAP1 経路はメバロン酸経路にも関連しており，免疫チェックポイント阻害剤に加え，スタチン系薬剤を使用することで ARF6 活性が抑制され，抗腫瘍効果が増大する可能性があり，スタチン系薬剤を用いた研究も現在施行中であると回答した．

最後に主査の武冨紹信教授から，背景の部分に PD-L1 についての文言がなく，一貫性に乏しくなっているという指摘があり，申請者は内容を見直し，修正すると回答した．KPC 細胞について，細胞樹立の方法について記載するべきとの指摘があり，申請者は修正すると回答した．治療実験において，コントロール群において IgG を投与した群と抗 PD-1 抗体を投与した群の間に有意差があるのかという質問があり，申請者は図には記載していないが有意差を認めると回答した．さらに，shAMAP1 群においては PD-L1 の発現が低下しているため，IgG 投与群と抗 PD-1 抗体投与群で差がなくなるのではないかと指摘があり，申請者は治療実験の結果に対する考察を修正すると回答した．

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）の学位を授与されるのに充分な資格を有すると判定した．