



Title	皮膚有棘細胞癌におけるFAM83Hの機能解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	得地, 景子
Description	配架番号 : 2772
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15454号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89996
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	TOKUCHI_Keiko_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 得地 景子

主査 教授 園下 将大
審査担当者 副査 教授 加藤 達哉
副査 准教授 橋本 茂

学 位 論 文 題 名

皮膚有棘細胞癌における FAM83H の機能解析

(Functional analysis of FAM83H in cutaneous squamous cell carcinoma)

本研究で申請者は、皮膚有棘細胞癌において FAM83H がサイトケラチンの分布を調節することで腫瘍細胞の遊走や浸潤に関与することを明らかにした。

審査にあたり、まず副査の加藤教授から、癌によって FAM83H の発現レベルが異なる機序に関して文献や考察などあるかとの質問があった。それに対して申請者は、特に大腸癌では MYC 遺伝子によって FAM83H の転写が調節されていると推測されるが、FAM83H 発現が亢進する全ての癌で MYC が関与している訳ではなく、発現制御機序の解明は今後の課題であると回答した。続いて、FAM83H をノックダウンした細胞でサイトケラチンが核周囲に凝集しているが、その他の細胞骨格に関わる分子との関連についての質問があり、申請者はアクチンを免疫染色したが明らかな形態的変化は確認できなかったと回答した。また、FAM83H ノックダウンで TRIM29 も核周囲に凝集したか質問があり、申請者は TRIM29 の分布は変化しなかったと回答した。そして、可溶性についてウェスタンブロット以外での評価はしているかとの質問があり、申請者はそれ以外の評価はしていないと回答した。それに対して mRNA レベルで発現が減弱するのか、翻訳された後に分解酵素が出るのかなどを検討すると良いとの提案があった。一方、サイトケラチンを導入すると細胞の浸潤能が上がることが報告されており、今回の研究結果とは矛盾する結果だが、それも細胞種や癌種による違いかとの質問があり、申請者はその様に考えていると回答した。最後に、新規治療標的になり得ると記載しているが今後臨床応用に向けてどのような形を考えているかとの質問があり、申請者は mRNA ワクチンなどを用いた局所的な治療が望ましいが発現が低下しているものを亢進させる方法については今後検討が必要であると回答した。

続いて副査の橋本准教授から、浸潤アッセイは 72 時間で評価しているが、24 時間以降は下部に浸潤した細胞の増殖を見ることになるので、今後注意するようにとの提案があり、申請者も同意した。同じく浸潤アッセイで、ノックダウン時の対照と過剰発現時の対照の浸潤細胞数が大きく異なる理由は何か質問があり、申請者は実験手技のばらつきが大きいことが原因と推測していると回答した。次に、ゼノグラフトマウスモデルの実験で投与直後に細胞数が揃っているか確認が必要であること、そして腫瘍成長の経過を掲載すべきとの助言があり、申請者も同意した。また、サイトケラチンと TRIM29、FAM83H との結合につ

いて、サイトケラチンの種類によって親和性が異なることはないかとの質問があり、申請者は本研究では表皮に主に発現している CK5 と CK 14 について検討したと回答した。続いて、サイトケラチンの減少した可溶画分の部分はどうなったのかとの質問があり、申請者は分解されたかなどを考察しきれていないと回答した。また、FAM83H 発現の減少によって代償性に運動性を担う分子や EMT との関連について今後どのように検討するかとの質問があり、申請者は E-カドヘリンの発現減弱は認めずアクチンも明らかな発現変化は認めなかったもので、今後は微小管などとの関連を調べる予定であると回答した。最後に、N-カドヘリンやビメンチン、フィブロネクチンなどの分子との関連についても検討するよう提案があり、申請者も同意した。

次に、主査の園下が学位論文の図 5 でデータと論文中の説明に乖離がある点を指摘した。申請者は、これを論文中で修正した。また、FAM83H の抗体が FAM83H を特異的に認識していることをどのような方法で検証しているかと質問したところ、申請者がその検討はしていないと回答したため、その点は本研究の limitation として論文に記載すべきと指摘し、申請者はこの通り対応した。また、増殖能については 2D 培養だけでなく 3D 培養も評価するよう提案し、申請者も同意した。そして、正常な表皮角化細胞における機能については解析されていないのでタイトルを再考するよう促し、申請者はこれに対応した。加えて、FAM83H や TRIM29 は今回検討したサイトケラチン以外のサイトケラチンとも結合する可能性があるので、機序解析の部分にサイトケラチンのサブタイプによる違いも盛り込むと良いと指摘し、申請者も同意した。一方、サイトケラチンの可溶性が減ることと核の周りへの集積との関連について質問したが、申請者は回答できなかった。最後に、サイトケラチンが核周囲に凝集しているが FAM83H の発現低下とサイトケラチンの凝集のどちらが有用な予後マーカーと考えられるか尋ね、申請者は解析のしやすさでいえばサイトケラチンの方が勝ると回答した。それに対して園下は、比較のスタディを行い FAM83H の方が鋭敏なマーカーであることが示せれば大きな貢献になるのではないかと指摘し、申請者も同意した。

本研究の知見は、皮膚有棘細胞癌の発生機序の解明ならびに患者の層別化の新規手法の開発につながる可能性があり、今後の臨床応用の可能性も期待される。研究発表の内容及びその後の質疑応答を通して、申請者は当該領域に関する見識と研究遂行能力を有すると判断するとともに、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、審査員一同は申請者が博士（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。