



Title	肝外胆管癌におけるケモカインレセプター（CCR7）の悪性度への関与と治療応用に関する検討〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	大場, 光信
Description	配架番号 : 2820
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15886号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91982
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	OBA_Mitsunobu_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 大場 光信

主査 教授 園下 将大
審査担当者 副査 教授 木下 一郎
副査 教授 吉川 雄朗

学 位 論 文 題 名

肝外胆管癌におけるケモカインレセプター（CCR7）の悪性度への関与と治療応用に関する
検討

(Studies on the effects of chemokine receptor (CCR7) on malignant potential and
therapeutic application in extrahepatic cholangiocarcinoma)

本研究は、肝外胆管癌の悪性化進展において CCR7 が果たす役割の解明を目指したものである。この中で申請者は、CCR7 の高い発現が患者生存期間の短縮と関連すること、CCR7 が培養ヒト肝外胆管癌細胞の上皮-間葉転換（EMT）を促進すること、そして抗体による CCR7 の機能阻害がこの細胞の遊走能や浸潤能を抑制することなどを見出した。

審査にあたり、まず副査の木下一郎教授から CCR7 を高発現した時になぜ EMT が起こるかとの質問があり、申請者は ERK シグナル等を介して snail、twist 等の転写抑制因子が活性化することで EMT を誘導する報告があると回答した。また、CCR7 が発現していればリガンド刺激がなくても EMT が起こるかという質問があり、申請者は GPCR の基礎活性によりリガンド刺激によらず活性化を起こすとの報告があること、本研究においては病理組織試料ではリガンド染色の特異的な結果が得られなかったため胆管癌周囲のリガンドに関するデータがないこと、そして培養細胞実験ではリガンド刺激が不要か検討する実験を行っていないことを回答した。さらに、受容体の基礎活性を考慮するのであれば、KKU-100 細胞が CCR7 を高発現していることではじめから EMT を起こしている可能性があるのではないかという質問があり、申請者は受容体の高発現と EMT との関連は検証していないことを回答した。続けて、同じく CCR7 のリガンドである CCL21 の機能は評価したかという質問があり、申請者は CCL19 の方が ERK1/2 の増強作用が強いとの既報を受けて CCL19 による実験を行ったが、両者はリガンドバイアスを有しており、CCL21 を組み合わせた検討で新たな知見が得られる可能性があることを回答した。加えて CCR7 の H score と EMT status の比較ではノンパラメトリックであるにも関わらず ANOVA で検討を行っている点の指摘があり、申請者は Kruskal-Wallis 検定を行い修正することを回答した。

続いて、副査の吉川雄朗教授から外科的アプローチによる胆管癌の予後改善の見込みについて質問があり、申請者は手術が定型化しており予後を大幅に改善させることは今後も期待し難いと回答した。次に、臨床病理学的検討で CCR7 と組織学的グレードに有意差を認

めた点をどう評価したかについての質問があり、申請者はCCR7の刺激による形質の変化が形態学的に現れたと考えたことを回答したが、形態変化は結果である点を指摘され、その過程について博士論文に考察を加える方針となった。また、培養細胞実験でCCL19の濃度をどのように決定したかとの質問があり、申請者は既報を参考に100 ng/mlに決定したと回答した。続いて胆管におけるCCL19の濃度について質問があり、申請者は病理組織資料でリガンドの染色が非特異的な染色となり断念したこと、保管している血清のCCL19の濃度測定も検体量に限りがあり断念したことを説明した。本研究において局所のリガンドの濃度は重要事項であり、研究の制約として考察へ追記する方針となった。さらに、EMTを起こすのに必要なE-cadherin、vimentinの変化量について質問があり、申請者はEMTの判定に基準がないことを回答し、本研究の結果だけでは必ずしもEMTが誘導されたとは結論できず、EMTにおけるタンパク変化の意義と制約を考察へ追記する方針となった。

最後に主査の園下将大教授から、胆管癌における基礎研究として本研究はどのような位置付けとなるかについて質問があり、申請者は胆管癌では近年標準的な化学療法が定まり、免疫チェックポイント阻害剤の併用やFGFR2阻害剤の有効性が示されるに至っているが、その効果は限定的であるという背景があること、そして本研究は最終的にはCCR7を標的とした治療が既存の化学療法と組み合わせて奏効率を上昇させ得るかの検討を目的としていると回答した。次に、ケモカインに注目した理由について質問があり、申請者は胆管癌にリンパ節転移例が比較的多く、転移例の予後が極めて不良であることから、リンパ球の帰巢現象に関連するケモカインに注目したと回答した。続いて、本研究は腫瘍内のどの環境を対象とした研究であるかの質問があり、申請者は臨床病理学的検討では腫瘍内不均一性を考慮して腫瘍中央部と先進部から組織を採取したが、CCR7が腫瘍の形質に影響を与えると仮定し腫瘍全体の形質をより反映すると予想した中央部で検討を進めたことを回答した。加えて、病理切片の評価者について質問があり、申請者自身と病理診断科の胆管癌診断のエキスパートが独立して評価したと回答した。そして、本研究の結果からCCL19-CCR7シグナルがEMTを介してがんの悪性化を起こしたと結論することができるのか質問があり、細胞株でEMTが誘導されたかは明確ではなく、CCR7の発現とEMTとの関連も明確ではないことから、別の機序で浸潤している可能性も含めて考察に追記する方針となった。

本論文は、肝外胆管癌におけるCCR7の発現が独立した予後不良因子であることを示し、その機能を解明した点において評価され、今後の治療応用への寄与が期待される。審査員一同は、これらの成果を評価し、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。