

FARP1 boosts CDC42 activity from integrin α 5 signaling and correlates with poor prognosis of advanced gastric cancer

著者	平野 拓郎
ファイル(説明)	最終試験結果の要旨 論文審査の要旨
別言語のタイトル	FARP1はインテグリン α 5からのシグナルを仲介してCDC42を活性化し、進行胃癌の予後不良と相関する
学位授与番号	17701甲総研第592号
URL	http://hdl.handle.net/10232/00031725

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 592 号	学位申請者	平野 拓郎
審査委員	主査	井戸 章雄	学位 博士 (医学)
	副査	中川 昌之	副査 吉本 幸司
	副査	橋口 照人	副査 上野 真一

主査および副査の5名は、令和2年8月31日、学位申請者 平野 拓郎 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 検討症例91例における進行胃癌の定義は何か。(回答) 壁深達度が筋層以深のものを進行胃癌と定義し、リンパ節転移の有無は問わない。

質問2) Fig.1c の TCGA の検討において正常組織と進行癌を比較するとより差が開くか。(回答) 取得した TCGA のデータの中に詳細な臨床情報がなく、検討できていないため不明である。

質問3) 正常胃粘膜における FARPI の機能は何か。(回答) 正常胃粘膜における FARPI の機能についての報告はなく、不明である。

質問4) FARPI 過剰発現細胞株でどのような形態変化がみられるか。(回答) コントロールと比較してより明瞭な糸状突起がみられる。

質問5) 具体的に血清の中の何が刺激して糸状突起が形成されるか。(回答) 今回は検討していないため不明であるが、FARPI がインテグリン $\alpha V\beta 5$ と結合することから、インテグリン $\alpha V\beta 5$ を刺激する分子と考えられる。

質問6) FARPI と CDC42 は結合するか。(回答) FARPI は CDC42 の GDP を GTP に変換して活性化させるが、結合するかどうかは不明である。

質問7) FARPI の発現制御のメカニズムはどのようなものか。(回答) 不明であるが、他の Rho グアニンヌクレオチド交換因子と協調して動いていると予想される。

質問8) 候補遺伝子の中で FARPI を選択した理由は何か。(回答) TRIO, NET1, ECT2 などについてはこれまで癌に関連する報告があったため、FARPI を選択した。

質問9) FARPI の免疫組織染色で正常胃粘膜は染色されるか。(回答) 弱い染色される。

質問10) 今回の臨床検体で FARPI の mRNA について検討しているか。(回答) 行っていない。

質問11) 胃癌細胞株における FARPI の発現の検討で MKN7 と MKN74 の mRNA の発現はあまり差がないように見えるが、MKN7 を FARPI 低発現細胞株、MKN74 を高発現細胞株として使用した理由は何か。(回答) mRNA レベルではあまり差はなかったが、蛋白レベルで差を認めたため。

質問12) FARPI とインテグリンの関係について、FARPI 過剰発現細胞株とコントロールの mRNA を比較して同定したのか、それとも論文から同定したのか。(回答) 論文から同定したものである。

質問13) FARPI と CDC42 の関係において、FARPI の最終的なエフェクター分子は CDC42 と考えてよいか。(回答) よい。

質問14) FARPI とインテグリンの結合実験において、裏実験は行ったか。(回答) 裏実験は行っていない。

質問15) 今回、インテグリン阻害剤を用いて検討しているが、下流の CDC42 の阻害剤はないのか。(回答) CDC42 の阻害剤は存在する。

最終試験の結果の要旨

質問 1 6) 胃癌の臨床において使用されているインテグリン阻害剤はあるか。(回答) 臨床で使用されているインテグリン阻害剤はない。

質問 1 7) Fig.1c の正常組織と癌部の mRNA の差は大きなものか。(回答) 大きな差といえるか分からないが、統計学的な差は認める。

質問 1 8) FARP1 蛋白の増幅は遺伝子異常によるものではなく、外部刺激の大小によるものか。(回答) 細胞外マトリックスやサイトカイン等の外部刺激の影響を受けて、制御されていると思われる。

質問 1 9) 遺伝子異常ではなく、外部環境で制御されているのであれば治療標的になりにくいのではないか。(回答) FARP1 の活性経路として EGFR からのシグナルを介したのも報告されており、抗 EGFR 抗体との併用で治療効果が期待できると考えている。

質問 2 0) Rho ファミリーを標的とした薬剤はあるか。(回答) CDC42, Rac1 の阻害剤は存在するが、実臨床で使用されているものはない。

質問 2 1) 胃癌の癌化のメカニズムとしてヘリコバクターピロリ感染による慢性炎症や EB ウイルス感染が知られているがそれらとの関係はどうか。(回答) 今回、それらについての検討を行っていないため不明であるが、検討することで制御のメカニズムについてもう少し推測できるかもしれない。

質問 2 2) 免疫染色の実験において、CDC42 は細胞の極性に寄与しているが、FARP1 の腫瘍の leading edge とその他の部位に差はみられたか。(回答) 差はみられなかった。

質問 2 3) 臨床検体において FARP1 の発現が venous invasion よりも lymphatic invasion に関連していることについてどのように考えるか。(回答) サンプル数の問題と考えている。

質問 2 4) CDC42 と RAC1 は共に低分子量 GTP 結合蛋白質 Rho ファミリーに属しているが、GSU および MKN7 に FARP1 を強制発現させた実験において両者の活性に解離が観察されていることについてどのように考えているか。(回答) CDC42 は FARP1 の下流のエフェクターであるが、RAC1 はエフェクターではない。

質問 2 5) FARP1 とインテグリン $\beta 5$ の発現が相関するのは癌細胞自体が転移・浸潤といった方向にプログラミングされていると考えてよいか。また、インテグリン $\beta 5$ の細胞内の発現に極性があるか。(回答) プログラミングされているかどうかは不明である。また、インテグリン $\beta 5$ の免疫染色を行っていないため、極性は不明である。

質問 2 6) MKN74 と MKN45 の FARP1 の発現量に差があるが、si-RNA を用いた実験で表現型にあまり差がなく、きれいなデータとなっているのはどうしてか。(回答) FARP1 の蛋白発現で MKN7 と MKN45 をみると、明らかに MKN45 が高く、再現性のあるデータであると考えている。

質問 2 7) FARP1 の免疫組織染色における染色濃度スコアは intensity を定量化もしくは Western を用いて客観的に評価したものか。(回答) 客観的な評価は行っていない。

質問 2 8) 臨床検体において FARP1 の発現が venous invasion よりも lymphatic invasion に関連しているが、再発形式に差がみられないのはどのように考えるか。(回答) サンプル数の問題で、venous invasion にも関連していると考えている。

質問 2 9) レンチウイルスベクターを感染させた細胞株はバルクもしくはクローン化して使用したか。(回答) 薬剤を用いてセレクションした。クローン化は行っていない。

質問 3 0) 糸状突起の評価で長さは意味があるものか。(回答) 糸状突起の長さの意味があるか否かは不明である。

質問 3 1) 神経細胞が突起を形成する際に FARP1 が関与しているが、突起の形成の仕方はそれと同様か。(回答) 同様と考えられる。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。