

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 325 号	学位申請者	北菌 巖
審査委員	主査	谷本 昭英	学位
	副査	井戸 章雄 ()	副査
	副査	福倉 良彦	副査
<p>主査および副査の5名は、平成27年 2月18日、学位申請者 北菌 巖 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。</p> <p>質問1) MAb MU4/IG8 はヒト膵癌細胞株のウエスタンブロットや免疫染色で免疫反応を示していないが、ヒト IPMN で、細胞先端部に発現を認めたのは、細胞極性と関係があるのか。</p> <p>(回答) MAb MUC4/IG8 は、マウス MUC4 を抗原として作成され、また実際、血管内皮に反応するという点においても、MUC4 をエピトープとして認識しているか疑問がある。MUC4/IG8 が細胞先端部に発現を認めるのは、MUC4β を認識している可能性もあるが、ヒトとの交差反応の可能性もあり判然としない。細胞極性との関係は不明である。</p> <p>質問2) 膵癌組織に MUC4/IG8 の発現は確認されるのか。</p> <p>(回答) 発現する。</p> <p>質問3) MUC4 発現は、組織学的分化度との間に相関はあるか。</p> <p>(回答) 多様な組織学的分化度と MUC4 発現に関しては、今後の研究課題と考えている。</p> <p>質問4) 膵液などのヒトサンプルで MUC4 の検出は可能なのか。</p> <p>(回答) ムチン遺伝子発現に、DNA メチル化やヒストン修飾などのエピジェネティクスが関連している。当教室で開発した新規 DNA メチル化解析法 (MSE 法) で、MUC4 発現状態を反映している DNA メチル化検出は可能である。</p> <p>質問5) 一般的に、主膵管型には腸型 IPMN が多く、分枝膵管型には胃型 IPMN が多いが、主膵管型の胃型 IPMN や分枝膵管型の腸型 IPMN には臨床的違いがあるのか。</p> <p>(回答) 現時点では明らかな臨床的、病理学的な差違は不明であるが、何らかの違いは予想される。今後の検討課題にしたい。</p> <p>質問6) MUC4 発現は患者予後と関係があるのか。</p> <p>(回答) 胃型単独 IPMN (79 例) において、MUC4/8G7 高発現で Overall Survival/Disease Free Survival に有意差を認めたと、腸型単独 IPMN (34 例) では有意差は認めなかった。今後、症例を増やし検討課題としたい。</p> <p>質問7) 術中迅速での断端評価において、MUC4 は今後臨床に応用できるか。</p> <p>(回答) 米国では、MUC2 染色は IPMN の術中迅速に使われている。MUC4 に関しても可能性がある。</p> <p>質問8) MUC4 発現に関して、臨床的因子で何らかの差異は無かったのか。</p> <p>(回答) MUC4 発現の有無に関し、年齢・性別・腫瘍部位・腫瘍サイズ等で検討をしたが、有意差は認めなかった。</p> <p>質問9) 染色強度について評価は行ったのか。</p> <p>(回答) 今回検討していない。</p>			

質問 10) 5%以上を陽性としているが、その評価方法とその理由は。

(回答) 腫瘍細胞の中で、全体の 5%以上が染色された場合を陽性とし、4名で評価した。評価の結果が異なる場合は、合意により最終決定した。また、今までの報告で 5%以上を criteria としており、それらと整合性を持たせるためにそのように評価した。

質問 11) 腸型 IPMN には、MUC2 が染色されるが、今回の MUC4 との関係はどのようなようになるのか。

(回答) 今回、MUC4 でも MUC2 と同様に主として腸型 IPMN に発現したが、異型度が増すにつれ発現率が増加する傾向があり、悪性度が高いものを認識すると考えられる。

質問 12) 通常の膵癌と IPMN 由来膵癌で、MUC4 発現は違うのか。

(回答) 通常の膵癌でも MUC4 の発現は認めるが、今回通常膵癌との比較は検討していない。

質問 13) 2012 年 IPMN/MCN 国際診療ガイドラインで、IPMN の組織学事項についてはどのような記載があるか？

(回答) ガイドラインの推奨一覧において、腸型形質を特徴とする粘液癌は管状腺癌よりも予後が良好であること、胃型は癌化するのがわずかであるが、癌化した場合には管状腺癌となり悪性度が高い。一方、腸型は大きくなると浸潤癌を有する可能性があるが、これは粘液癌で悪性度が低いと記載されている。

質問 14) いずれの MUC4 も異型度の増大とともに陽性率が上がっているがそのメカニズムは何か。

(回答) 同じ膜結合型ムチンである MUC1 は、E カドヘリンの機能を失わせ、細胞間接着を阻害し、MUC1 の過剰発現を起こしている。MUC4 においても同様な機構でムチン発現が起こっている可能性がある。

質問 15) 今回の研究で、2012 年国際診療ガイドラインにどのような影響をきたすと考えられるか。

(回答) 分枝型 IPMN の診療アルゴリズムの中で、“worrisome features”を有する全ての嚢胞、“worrisome features”を呈さない 3cm を超す嚢胞には EUS の施行が推奨されている。EUS における細胞診で、悪性および疑い症例は手術適応とされている。その際に、当教室で開発した新規 DNA メチル化解析法 (MSE 法) による MUC4 検出で亜型鑑別が可能となれば、手術適応の判断に有力な情報を得ることができ、ガイドラインに影響する可能性も考えられる。

質問 16) MUC4/8G7 のエピトープはどこか。また、抗原ペプチドは何か。

(回答) ムチンサブユニットである MUC4 α のタンデムリピートをエピトープとして認識する。抗原ペプチドは、16 アミノ酸 (STGDTTLPVTDTSV) である。

質問 17) ウェスタンブロットでは通常ポリアクリルアミドゲルを使用するが、今回なぜ SDS 含有 2%寒天ゲルを使用したのか。

(回答) MUC4 のような大きな分子を分離する際には、アガロースゲルと SDS を組み合わせた方法が使用される。

質問 18) α チューブリンのウェスタンブロットはアガロースゲルではなく SDS ポリアクリルアミドゲルを使用したのか。

(回答) ポリアクリルアミドゲルを使用した。

質問 19) 培養細胞とヒト組織での免疫染色で染色方法が異なる理由は。

(回答) 培養細胞ではチャンバースライドを用いたので、自動免疫染色装置を用いた免疫染色が出来なかった。

質問 20) 抗原ペプチドによる抗体吸収試験はしたのか。

(回答) 今回、吸収試験は行っていない。

質問 21) 細胞増殖に関する MUC4 の機能にはどのようなものがあるのか。

(回答) MUC4 の C 末端側 β unit は、ErbB2 と結合し、さらにニューレグリンを介して ErbB3 との複合体を形成する。その後、リン酸化を来し、MAP (mitogen-activated protein) kinase シグナルが活性化される。このような機序が、癌細胞の増殖に密接に関係していることが知られている。

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。