

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 491 号		学位申請者	吉福 明日香
審査委員	主査	谷本 昭英	学位	博士 (医学)
	副査	黒野 祐一	副査	夏越 祥次
	副査	古川 龍彦	副査	堀内 正久
<p>主査および副査の5名は、平成30年12月19日、学位申請者 吉福明日香君に面接し、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) ジチロシンの形成について、酸化ストレスでなぜこのような結合が起こるのか？水素同士が結合しているのか？</p> <p>(回答) 酸化ストレスでチロシンの3番目の炭素同士が結合しジチロシンが形成される。調べた限りこの反応が起きる機序は明らかにされていない。</p> <p>質問2) 統計処理として、Kruskal-Wallis 法と多重比較 Steel-Dwass 法を使用しているが、ソフトは何を使用したか？</p> <p>(回答) Microsoft Excel に入っている統計ソフト (Microsoft Excel 2010) を使用した。</p> <p>質問3) 論文中にデータを mean ± SD で評価したとあるが図中に mean ± SD の記載があるか？</p> <p>(回答) 実際には mean ± SD で評価し、当初はグラフにも+の記号を用いて記載していたが、論文の修正をするやり取りの過程で誤って記載のないグラフを掲載してしまった。</p> <p>質問4) 正常皮膚、AK、SCC に関して、年齢、性別、露光部・非露光部、職業別で、8-OHdG、DT、MDA それぞれに関して中央値などを比較しているか？</p> <p>(回答) 年齢、性別、職業では、今回は検討していない。SCC において露光部と非露光部で検討したが、いずれの酸化ストレスの指標も有意差はなかった。</p> <p>質問5) 今回は免疫染色で比較しているが、ホルマリン固定や染色の過程で酸化ストレスの影響は受けないのか？酸化ストレスを防ぐ試薬はあるのか？</p> <p>(回答) 複数の文献にホルマリン固定や染色の過程での修飾はないと記載されている。酸化ストレスを防ぐ特別な試薬はない。</p> <p>質問6) 免疫染色したプレパラートの3か所をランダムに選んだということであるが、選ぶ基準や取り決めがあるか？測定する人へ疾患名などがブラインドされていないとバイアスがかかるのでは？</p> <p>(回答) 特に厳密な基準は定めず、プレパラート全体を見て平均的な部分を3カ所選び、疾患名は見ずに評価した。</p> <p>質問7) 8-OHdG は AK など発癌の初期に上昇しているが、SCC では正常と比べて差がないのはどうしてか。8-OHdG は癌になると抑制されるのか？発現が弱くなる理由は？</p> <p>(回答) 8-OHdG は食道癌では正常粘膜と比べ増加しているとの報告があるが、皮膚の SCC で増加していなかった。その原因について文献を調べたが明確な理由はわからなかった。皮膚の SCC では、紫外線によって染色体 DNA に発生した 8-OHdG が、複製時に G → T 変異を惹起し、oxoguanine glycosylase 1 (OGG1) などの修復能が低下することによって発癌が誘発されるので、DNA がダメージを受ける発癌の初期に増加するのではないかと思われる。</p>				

## 最終試験の結果の要旨

質問 8) MDA は、AK、SCC ともに増加しているが、臨床的な意義は？

(回答) 詳細は不明であるが脂質の酸化は発癌の初期と浸潤癌への移行期に関与していると考えられる。

質問 9) Bowen 病 (BD) と AK の組織学的、病態の違いは？ BD と比較する意義はあるのか？ Bowen 癌では比較したのか？

(回答) AK は表皮基底層を中心に異型ケラチノサイトがみられるが、BD では表皮のほぼ全層にわたって異型ケラチノサイトを認め clumping cell も出現する。AK は日光暴露が主な誘因でありほぼ全例が露光部に発生するが、BD 発症には HPV やヒ素など他の要因があり露光部、非露光部それぞれに発生するなど病態に相違がある。従って両者を比較する意義がある。Bowen 癌は検討していない。

質問 10) 大腸癌などは癌遺伝子が発見されているが皮膚の SCC ではどうか？

(回答) 皮膚の癌では基底細胞癌や悪性黒色腫では、それぞれ TP53 遺伝子、BRAF 遺伝子等の変異が発見されているが、皮膚の SCC では特定の癌遺伝子は同定されていない。

質問 11) 抗 8-OHdG, DT, MDA 抗体を選んだ理由は何か？ 他の免疫染色は行ったか？

(回答) 酸化ストレスの論文を多数検索した中で最も多く使用されている抗体を使用した。他の抗体では行っていない。

質問 12) 8-OHdG の染色で核が染まるものと細胞質が染まるものがあったが違いは何か？ 同じようにカウントしたのか？

(回答) 御指摘のように染色動態に違いがみられた。臨床、病理との相関について検討したが理由は明らかにできなかった。本研究では同じようにカウントした。

質問 13) 原発巣、転移巣で染色に違いはなかったか？

(回答) 同一症例で原発巣、転移巣の染色を行ったものがあり比較検討したが、違いはなかった。

質問 14) 皮膚の SCC で活性酸素自体を測定した論文はあったか？

(回答) 我々が調べた範囲では見つけれなかった。

質問 15) 臨床に生かす方法はあるか？

(回答) 皮膚の SCC では抗癌剤が著効しない例が多く、抗酸化剤による治療の有効性が報告されている。本研究の結果は抗酸化療法に手掛かりを与える。有棘細胞癌由来株を用いて、抗酸化剤の効果を評価する *in vitro* の実験を考えている。

質問 16) 8-OHdG が過剰に蓄積しているということは DNA の修復機構が異常になっている可能性があるが、BD や AK で DNA 修復異常の報告はあるか？

(回答) 食道癌では OGG1 という修復酵素が低下しているという報告があるが、BD や AK ではそのような報告はない。

質問 17) MDA は不飽和脂肪酸の酸化をみていると思われるが、癌細胞で不飽和脂肪酸自体の量が増加しているという報告はあるか？

(回答) 癌細胞で不飽和脂肪酸自体が増加しているという報告は見つけれなかった。

質問 18) AK と SCC が混在している症例があったか？

(回答) AK から SCC が発生しているものがあり、例えば 8-OHdG では、AK の部位では濃く染まり SCC の部位では薄く染まっていた。

質問 19) ケラトアカントーマは染色したか？

(回答) ケラトアカントーマは今回の研究対象には含まれていない。

質問 18) 近年 SCC 症例が増加しているように感じるが、長生きが原因か？ AK 由来、ケラトアカントーマ由来、*de novo* ではどれが多い印象か？

(回答) AK 由来が多いと思っていたが、今回の統計結果では AK 由来は少なく *de novo* が多かった。

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。