

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 506 号	学位申請者	本庄 希江
審査委員	主査	杉浦 剛	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	岸田 昭一	副査 松口 徹也
	副査	小松澤 均	副査 野添 悦郎

主査および副査の5名は、平成31年 2月19日、学位申請者 本庄 希江 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) ELISAにて細胞内の estrogen 産生量を測定する意義は何か？

(回答) 乳癌細胞内の estrogen 産生量を測定することで、男性ホルモンを estrogen に変換させる aromatase の機能を評価している。細胞内に貯蓄された estrogen の一部は後に細胞外へ分泌されると考える。

質問2) ELISAにて estrogen 産生量だけではなく、男性ホルモンの量的変化はないのか？

(回答) 今回の研究では、男性ホルモンの測定を行っていないが、aromatase の機能を評価するためには、男性ホルモン量の測定を考慮する必要もあったと考える。

質問3) アルドステロン合成酵素は副腎皮質に発現しているのではないか？

(回答) 副腎皮質にて発現している。

質問4) PEP19は元々転写因子なのか？

(回答) 現在までそのような報告はされていない。

質問5) estradiol 刺激による PEP19 の変化は、SK-BR-3では確認していないのか？

(回答) 今回の研究では確認していないが、今後 SK-BR-3 においても確認する必要があると考える。

質問6) luciferase assayにて P I.3、I.4、IIのプロモーター活性は、PEP19の overexpression 時には変化しないが knockdown 時に減少した理由は何か？

(回答) SK-BR-3では、主に P I.1を活性化すると報告されているが、他のプロモーターにも作用している可能性があり、PEP19において P I.3、I.4、IIを活性化させる未知の経路が存在する可能性があると考えられ、より詳細な実験が必要であると考ええる。

質問7) aromatase の P I.1、I.3、I.4、IIに結合する共通の転写因子はあるのか？

(回答) 過去の研究にて、共通の転写因子があるという報告はされていない。

質問8) estrogen の E1、E2、E3について機能の違いはあるのか。

(回答) E1は、肥満、加齢、妊娠、子宮内膜癌への関連性が示唆されている。E2は estrogen の中で最も多く産生され、高い機能が報告されており、性腺系の発育増殖、骨代謝への関与が知られている。E3は、胎児、胎盤、母体系機能への関与が示唆されている。

質問9) ERの種類について違いはあるのか？

(回答) ERは、ER- α とER- β が存在し、ER- α は骨、卵巣、ER- β は骨髄、肺、膀胱などで発現し、乳癌組織ではER- α は乳癌増殖を促進し、ER- β は乳癌増殖を抑制すると報告されている。また乳癌においては主にER- α が発現していると報告されている。

質問10) ESR1の knockdownにて、ESR1の mRNAの減少量が少ないのはなぜか？

最終試験の結果の要旨

(回答) 今回の研究では、ESR1mRNA の減少は 40%~50%ほどであるが、十分な有意差が生じた為この条件で実験をおこなった。原因については不明である。

質問 11) Fig.4 において、estradiol 刺激を行ったのはなぜか？

(回答) 以前に行った研究にて、MCF-7 では estradiol 刺激により PEP19 が増加したため。

質問 12) Fig.8 において A、B では P I.3、I.4、II の発現はみられないが、C、D ではみられるのはなぜか？

(回答) A、B でも P I.3、I.4、II の発現はみられたが、P I.1 と比較して発現量がとても少ない為グラフ上に表せなかったから。

質問 13) 臨床検体にて、ER(+)と ER(-)の組織について PEP19 と aromatase の関連を調べているが、どのような意味があるのか？

(回答) 乳癌では、組織を ER(+)又は(-)に評価し、その上で治療方針を決定するため、ER(+)の症例において PEP19 や aromatase の関与を解明することは治療上重要だと考える。

質問 14) PEP19 は、口腔癌での発現や関連性はあるのか？

(回答) PEP19 が SCC や口腔粘表皮癌において発現することを免疫染色にて確認している。

質問 15) ER の細胞における局在はどうなっているのか？

(回答) ER は核内受容体であり、主に細胞質に存在し estrogen と結合し核へ移行することで、転写活性がなされると報告されている。

質問 16) 非遺伝子的経路では ER はどのような作用を受けているのか？

(回答) EGFR などの受容体のクロストークによって ER がリン酸化され活性化されると報告されている。

質問 17) 細胞外へ放出された estrogen はどのように機能するのか？

(回答) 細胞外へ放出された後、ER(+)の細胞での ER と結合し、バラクラインを行っていると考える。

質問 18) SK-BR-3 は臨床的な乳癌で知られている各種マーカーについては、どのような細胞であるのか？

(回答) Her2(+), aromatase(+), ER(-)であることが報告されており、以前の病理学分野の研究にて PEP19(+)であることが示されている。

質問 19) ER(-)である SK-BR-3 において、aromatase 阻害薬は効果があるのか？

(回答) 組織として ER(-)の症例には効果は見込めないが、ER(+)の症例において、ER(-)の SK-BR-3 と ER(+)の乳癌細胞が混在している場合には、細胞間のバラクラインによる相互作用を考慮し、効果を見込めると考える。

質問 20) 細胞実験の結果と組織の免疫染色での結果の違いはなぜか？

(回答) 細胞実験では 1 種類の細胞でのみ行っているが、免疫染色を行った組織では複数の種類の細胞が混在しているため、結果の相違が生じたと考える。

質問 21) 実験結果の違いに対する対策としては何が挙げられるのか？

(回答) 複数の細胞による共培養での実験が必要であると考えられる。

質問 22) ER(-)の SK-BR-3 に ER を OE させるとどのような結果が生じると考えられるか？

(回答) estrogen と細胞内の ER が結合することで aromatase 活性が増加し、乳癌細胞の増殖・浸潤が促進されると考えられる。

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(歯学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。