

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第246号	学位申請者	田村 幸大
審査委員	主査	谷本 昭英	学位 博士 (医学)・歯学・学術)
	副査	小澤 政之	副査 夏越 祥次
	副査	古川 龍彦	副査 郡山 千早

主査および副査の5名は、平成25年4月16日、学位申請者 田村 幸大 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) ウエスタンブロットの際、通常はポリアクリルアミドゲルを使うが、なぜ膜転写の際に SDS 含有 2%寒天ゲルを使ったのか？

(回答) 共著者の Dr. Batra の研究室での MUC4 のウエスタンブロットの手技に従って行った。MUC4 のような 200kDa を越えるような分子に関しては、通常分子生物学の実験で使われる SDS-PAGE 法ではうまく分離することが難しいことが知られている。そこで、一般的に DNA のような大きい分子を分離する際に用いられるアガロースゲルと SDS を組み合わせた方法が、ムチンのような巨大なタンパク分子の分離に用いられている。

質問2) 抗 MUC4/1G8 抗体がウエスタンブロッティングで MUC4 を認識しないのは、抗体の性質上の問題なのか、それとも細胞に抗原が発現していないからなのか？

(回答) 抗 MUC4/1G8 抗体は、血管内皮に反応するという点でも本当にムチンに対する抗体とは考えにくく、MUC4 のエピトープを認識しているのか疑問がある。抗 MUC4/1G8 抗体のエピトープが何であるのかは現時点では判然としていない。

質問3) 培養細胞に MUC4 の cDNA をトランスフェクションした細胞で 1G8 が認識する抗原の有無につき研究した報告はあるのか？

(回答) 現時点ではない。

質問4) MUC4 は分子量 500kDa 以上とのことだが、実際の大きさはどの程度になるのか？

(回答) サイズに幅はあるが、550~930kDa と言われている。

質問5) MUC4 として存在するときに N 末端から C 末端まで完全な形で発現されているのか？ Splicing variant はないのか？

(回答) MUC4 については splicing variant の研究がまだ十分に行われておらず、知見がない。

質問6) 抗 MUC4 抗体の発現が脈管侵襲、リンパ節転移に関連するとのことだが、今回の症例はリンパ節郭清をしている症例、していない症例など分けて検討したのか？

(回答) 今回は SM2 (pT1b2) の癌が対象になっているため、D1 以上のリンパ節郭清まで行うのが標準術式となる。今回の症例はすべてリンパ節郭清を行っている。

質問7) 今回の研究結果から MUC4 の発現が無ければリンパ節郭清をしなくても良いと言えるか？

(回答) 今回の研究では SM2 という早期癌のみの検討の結果、予後との相関が出ていない。予後との関連が明らかにならなければ、そこまで言うことは難しい。

質問8) 消化管内での膜関連ムチン、分泌型ムチンの役割はどのようになっているのか？

(回答) 分泌型ムチンは消化管の粘膜保護作用や潤滑作用、膜型ムチンはシグナル伝達が主な機能とされている。

質問9) 腫瘍細胞における MUC1 と MUC4 の発現の調節はどのようにされているか？

(回答) 十分には解明されていないが、一連の研究で、DNA メチル化等のエピジェネティクス機構がその発現調節に関わっているというデータが得られつつある。

質問10) 年齢、性別、人種で MUC4 の発現に差があるという報告はあるのか？

(回答) そのような報告は無いと思われる。

質問11) 同一症例で組織型が異なった場合に、発現の様式は組織型と関係なく症例毎に似た傾向を示すのか？もしくは組織型に依存するのか？

(回答) 症例毎の傾向ではなく、組織型に依存して陽性率が変わっている。

質問12) リンパ節転移があった症例において、原発巣の組織での MUC4 の発現様式と転移したリンパ節での発現様式は同じ傾向だったのか？

(回答) 今回は検討していない。

質問13) 組織で発現を評価する際に、どの部位を主に観察したのか？

(回答) SM2 癌であるためプレパラート全体を観察し、全体での発現の比率を何%という形で評価した。浸潤の深さによって MUC4, MUC1 の発現に違いはなかった。

質問14) 組織内で分化度が変化していることがしばしばあるが、その点も考慮して検討したのか？

(回答) 同一症例の組織の中で分化度に変化がある場合は、それぞれ別の病変として評価した。

質問15) 組織の分化度と、脈管侵襲やリンパ節転移との間に相関はあったのか？

(回答) 組織の分化度と、脈管侵襲やリンパ節転移との間に相関は認められなかった。

質問16) 抗 MUC4/1G8 抗体の陽性とリンパ管侵襲、リンパ節転移が相関するという結果からは 1G8 の方が有用であると理解して良いのか？

(回答) 進行癌を含めた検討、予後を含めた検討まで行わなければ 1G8 の有用性について確定的なことは言えない。

質問17) N1 が 41 例、N2 が 14 例あったが、8G7 と 1G8 陽性との相関はあったのか？

(回答) 相関はなかった。

質問18) 内視鏡的粘膜下層剥離術を施行した症例でリンパ管侵襲なし、静脈侵襲なし、抗 MUC4 抗体陽性であった場合には、追加で外科手術をした方が良いとレポートされるのか？

(回答) 現時点ではそこまで言うことは困難で、リンパ節転移の検索のための画像診断を短いインターバルで施行することが必要という報告になる。

質問19) 抗 MUC4/1G8 抗体は MUC4 を認識しているわけではないという結論が導かれそうな中で、敢えて文献的検索を含めて触れたのはなぜか？

(回答) 1G8 と 8G7 の差についてははっきりと示している報告がこれまで無かったため、敢えて 1G8 についても報告した。

質問20) 海外の学術誌に投稿するのにあたって、日本の胃癌組織型分類を使った理由は何かあるのか？

(回答) 日本での症例を対象としていることから、まず、より詳細な日本の胃癌組織型分類を用いた。日本の組織型分類のデータがあれば、今後、海外の分類に合わせるという作業は可能になると思われる。

質問21) リンパ管侵襲、静脈侵襲の判定はどのようにしたのか？

(回答) リンパ管や血管を染める手段(D2-40 や VB)を使って脈管の確認をした。

質問22) リンパ管侵襲、静脈侵襲の判定は自身で観察したのか？

(回答) リンパ管侵襲、静脈侵襲については報告結果をもとに検討しており自身での観察は十分には出来ていない。

質問23) 今回、進行癌を扱わず早期胃癌に絞った理由は何かあるのか？

(回答) 進行癌では組織の変性が染色の状態に影響することが予想されたため、早期胃癌のみを対象とした。

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。