

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目 「Nectin-1 expression in cancer-associated fibroblasts is a predictor of poor prognosis for pancreatic ductal adenocarcinoma」
(Nectin-1 の癌関連線維芽細胞への発現は膵管癌の予後不良因子である)

学位申請者 山田 美鈴

本論文は、浸潤性膵管癌（以下、膵癌）患者の手術標本において、細胞接着因子である Nectin 及び Necl の発現を、特に癌関連線維芽細胞（cancer-associated fibroblast, CAF）で検討し、悪性度や予後との関連を解析した研究である。

膵癌は豊富な間質を有することが特徴の一つである。間質は主に腫瘍細胞周囲の活性化した線維化細胞である CAF により構成されており、腫瘍の転移や浸潤、治療抵抗性に関与していることが知られている。細胞接着因子である Nectin や Necl の CAF における発現はほとんど報告されておらず、膵癌における悪性度や予後との関連も研究されていない。本研究では、2000 年から 2013 年までに東海大学医学部附属病院で外科的切除された膵癌 258 例について、Nectin-1, Nectin-2, Nectin-3, Nectin-4 および Necl-2, Necl-4, Necl-5 の発現を解析した。解析法としては各症例のパラフィン包埋ブロックより、腫瘍細胞、及び CAF の Tissue microarray ブロックを作成し、それぞれの分子に対する抗体で免疫染色を行っている。予備実験により、陽性細胞の割合が 30%を超えるものを陽性としている。各症例の TMN 分類、組織 grade で評価した悪性度ならびに overall survival と各分子の発現との関連を解析している。その結果、CAF での Nectin-1 の発現はリンパ節転移、stageIIb 以上、傍神経侵襲、膵頭部発生と有意に相関していた。また overall survival に関与する因子を多変量解析で解析した結果、リンパ管侵襲、pT3 以上の進行度、リンパ節転移、遠隔転移、grade 2 以上の低分化腫瘍とともに、CAF における Nectin-1 の発現が独立した有意な因子であった。以上から、CAF における Nectin-1 の発現が膵癌の悪性度ならびに予後不良と関連する因子であると結論している。また、3 種類の膵癌細胞株と線維芽細胞株を共培養し、線維芽細胞における Nectin-1 の発現への影響を検討したところ、BxPC3 膵癌細胞は線維芽細胞の Nectin-1 の発現を有意に低下させ、両細胞間に何らかの interaction があることを示した。

本論文に対して、各審査委員から次の様な質疑がなされた。

1. 同一症例の組織内における Nectin-1 発現の heterogeneity と、単一の Tissue microarray (3 mm 径)で評価することの妥当性
2. Nectin-1 発現の陽性・陰性を判断するカットオフ値を 30 %とした根拠と、臨床的意義との関連
3. 膵癌周囲間質と他の癌や膵炎等に伴う間質との形態的相違や特徴の有無
4. CAF の一部は膵癌細胞由来とする説もあるが、CAF 形態や Nectin-1 発現の多様性はどうか？
5. Nectin-1 のがん細胞と間質細胞の分布の免染像は Epithelial-mesenchymal transition を物語っているように見えるが如何か？
6. Nectin-1 の発現が CAF と腫瘍細胞でそれぞれ高い、低い 4 群に分けた場合、悪性度や overall survival との関連はどうか？
7. 他の Nectin や Necl には何らかの傾向はあったのか？
8. 膵頭部の症例で発現率が高い理由はどのように推定されるか？

9. 共培養実験において3種類の培養膵癌細胞株を選定した理由と、それぞれの生物学的特徴
10. 膵癌細胞と共培養した線維芽細胞において Nectin-1 発現が低下したことの意義
11. 共培養実験で、膵癌細胞側の形態学的・分子生物学的変化を検討する必要性
12. Nectin などの接着因子はどのような機序で膵癌細胞に作用していると推測されるのか？
13. Nectin-1 発現に着目した膵癌治療の展望

これらの質問に対し、申請者は自らの研究結果が意味すること、ならびに今回の研究の限界や今後解決すべき問題について十分に理解した上で、真摯に回答していた。また、質疑応答の中で、申請者が消化器外科領域のみならず、広く臨床病理学的知識を有していることも明らかとなった。本研究は将来、Nectin-1 が膵癌の新規バイオマーカーあるいは新規治療対象分子となる可能性を示唆しており、今後の発展が期待される。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者 山田 美鈴は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（医学）	加川 建弘	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	田尻 琢磨	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	稲垣 豊	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	中郡 聡夫	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	野村 栄治	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）