

学位論文審査の結果の要旨

令和 5 年 8 月 23

審査委員	主査	周野 圭一		
	副主査	矢島 俊樹		
	副主査	日下 隆		
願出者	専攻	医学	部門	(平成27年度以前入学者のみ記入)
	学籍番号	17D710	氏名	河野 寿明
論文題目	Antitumor Effect of Galectin-9 on Cell Proliferation and Tumor Growth of Human Duodenal Adenocarcinoma			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

〔 要 旨 〕

【目的】十二指腸癌は全悪性腫瘍のうちの0.5%以下とされ、原因不明かつ希少性ゆえに十分な科学的根拠に基づいた標準治療は存在しないのが現状であり、それゆえに新しい治療薬の開発は急務である。一方で Galectin-9 による十二指腸癌に対する腫瘍増殖抑制効果は明らかではなく、今回ヒト十二指腸癌細胞株を用いて in vitro および in vivo での検討を行ったので報告する。

【方法】

1. 十二指腸癌細胞株 (HuTu80) の培養系に Galectin-9 を投与し、細胞増殖抑制効果を細胞増殖アッセイを用いて検討。
2. Galectin-9 による十二指腸癌細胞株に対する増殖抑制効果の機序推定として、フローサイトメトリー法による細胞周期抑制効果、アポトーシスの誘導効果について解析した。
3. Western blotting により細胞周期関連蛋白質の発現を解析。アポトーシス関連分子については、35分子が搭載されたメンブレンアレイも用いて解析。
4. 無胸腺マウスに十二指腸癌細胞株を移植し、コントロール群にはPBSを、実験群にはGalectin-9を皮下投与し腫瘍体積の解析を行う。

【結果】 Galectin-9 投与群はコントロール群に比較して、FACSによる解析ではG1期の増加、S期の減少を認めた。Western blottingではCyclinD1/Cdk4, pRbの減弱を認めた。FACSではアポトーシスの誘導も認め、メンブレンアレイによりcleaved caspase3の発現増強を確認した。無胸腺マウスを用いた異種移植モデル分析では、投与後11日時点にて腫瘍体積に有意差を生じ、Galectin-9投与群において抗腫瘍効果を認めた。

【結論】 Galectin-9は十二指腸癌細胞株に対して、アポトーシス誘導と、Cdk4, cyclinD1の発現抑制を介したG1停止を引き起こすことによる細胞増殖抑制効果を持つことが示された。また腫瘍増殖抑制効果はin vivoにおける検討でも確認された。Galectin-9は十二指腸癌の新しい治療分子になる可能性がある。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和5年8月21日に行われた。
 本研究はGalectin-9が十二指腸癌細胞株に対して腫瘍増殖抑制効果を持つことを明らかにしたもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は、Galectin-9の持つ抗腫瘍効果として細胞周期アレストとアポトーシスの両者を誘導することを認めたことであり、学術的価値が高い。委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分値するものと判断した。

審査においては

1. In vivoの実験系におけるGalectin-9投与量の根拠
 →免疫病理学仁木敏郎先生の報告より、マウス担癌モデルにおけるGalectin-9の血中濃度の解析結果に基づいている。本研究で投与した90 μg/bodyにて最高血中濃度0.32 μg/ml以下となり、in vitroの系で設定した濃度と解離がない。
2. In vivoの系において、Galectin-9投与群において投与量により副作用が出現したか
 →Galectin-9投与群において明らかな副作用は認められなかった。
3. Galectin-9にはTim-3を介したT細胞活性化抑制作用があるが、腫瘍増殖抑制に働くのはなぜか
 →Galectin-9には未知の部分が多い物質であり、4-1BBを介したT細胞活性化も指摘されているため、他の経路を介した効果であると考えている。
4. 教室内における過去のGalectin-9研究と比較し、十二指腸癌細胞株における新規性、特異性はあったか。
 →これまでに指摘していない新たな機序や、分子は確認できなかった。しかしながら、これまでの研究ではGalectin-9の抗腫瘍効果はアポトーシスを介したもののみであったのに対して、十二指腸腺癌細胞株ではアポトーシスのみならず、細胞周期アレストも誘導する点に新規性があると考えている。
5. なぜGalectin-9を選択したか
 →当研究室ですでに他の癌腫において研究されていたことからノウハウがあったこと。それらの研究をさらに発展させる可能性や、研究室への貢献を考慮した。
6. Galectin-9のGalectinファミリーにおけるアドバンテージはなにか
 →他のGalectinについての知見が十分でなく、今後の研究課題として追及していきたい。
7. キーとなるmiRNAを認めたか。
 →文献的考察からmiR-1469, miR-940がアポトーシス誘導を促進したと考えている。
8. それらのmiRNAが、考察する作用機序を有するかの検証はしたか。
 →本研究では当該のmiRNAを十二指腸腺癌細胞株に対して投与するなどの実験系は行っておらず、検討できていないため、今後の検討していきたい。
9. 臨床応用にあたって、Galectin-9には免疫抑制機序もあるが、ヌードマウスでの実験のみで通常のマウスでは検討したか。
 →ヌードマウスのみ使用した。今後の検討課題としたい。
10. 細胞周期アレストとアポトーシス誘導のどちらが優位であったか。
 →それぞれ関連分子を検出するためのウェスタンブロッティングでの蛋白の検出は、細胞周期に関連するものの方が検出が容易であり、より多くの影響があったためと考えるなどについて多数の質問が行われた。申請者はいずれも明確に応答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲載誌名	Anticancer Reserch Volume43, Issue No. 8, 2023		
(公表予定) 掲載年月	2023年6月29日受理	出版社(等)名	International Institute of Anticancer Research (IIAR)

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。