




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第585号	氏名	羽田真郎
審査委員会委員		主査氏名	石山 敏理 (石)
		副査氏名	瀧田 文彦 (瀧)
		副査氏名	今井 浩光 (井)
<p>論文題目 Hypoxia-induced angiopoietin-like protein 4 as a clinical biomarker and treatment target for human prostate cancer (低酸素で誘導されるアンギオポエチン様因子4は前立腺癌の臨床的バイオマーカーと治療標的になりうる)</p> <p>論文掲載雑誌名 Oncology Reports</p> <p>論文要旨 一般に低酸素環境は、がん細胞の増殖、浸潤、転移、治療抵抗性をもたらすことが知られている。申請者らは、長期低酸素環境が、アンドロゲン非依存性にヒト前立腺癌細胞株の増殖を促進することを報告している。近年、アンギオポエチン様因子4 (ANGPTL4)、種々のがんにおけるANGPTL4の役割が報告されており、本研究では、低酸素環境下で前立腺癌におけるANGPTL4発現とその意義について検討を行った。</p> <p>慢性的に低酸素状態で培養したLNCaP細胞(LNCaP/CH)では、ANGPTL4の発現および分泌量は、通常培養したLNCaP細胞や急性に低酸素状態で培養したLNCaP細胞に比して有意に増加を認めた。そこでANGPTL4の作用を検討するため、リコンビナントANGPTL4 (rANGPTL4)を培地に添加し、LNCaP細胞の増殖への関与について検討した。その結果、濃度・時間依存性にAktのリン酸化の亢進ならびに、細胞の増殖促進を認めた。また、PI3kinase阻害薬の添加は、rANGPTL4添加による細胞増殖を抑制した。加えて、RNAi法によりANGPTL4をLNCaP細胞でノックダウンすると、培養上清中の分泌量は有意に低下するのに加え、増殖が抑制されることが判明した。このことから、ANGPTL4は、PI3K-AKT経路を介し、細胞増殖を調節していることが示唆された。またANGPTL4安定高発現細胞株では、ドセタキセル耐性を認めたことから、ANGPTL4の発現は、化学療法抵抗性の要因となり得、前立腺がんの予後不良因子の1つであることが示唆された。そこで、実際、多変量解析において、前立腺全摘標本におけANGPTL4発現と生化学的再発との関係について検討したところ、確かに、独立した予後規定因子であることが判明した (P=0.03, Hazard ratio = 2.02)。</p> <p>本研究により、低酸素環境により誘導されたANGPTL4は、PI3K/Akt経路の活性化を介して前立腺癌の進展に寄与すること、また外科的切除標本におけるANGPTL4発現が予後規定因子であることが判明した。これらの結果をもとに、ANGPTL4が臨床的にも有用な新規治療標的(薬物標的)としての可能性が示唆された。</p> <p>以上のように、本論文はヒト前立腺がんの新たな治療戦略に情報をもたらす重要な論文である。このため、審査委員の合議により、本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 課・論	第585号	氏名	羽田真郎
審査委員会委員		主査氏名	江崎 敏理 
		副査氏名	瀧田 文彦 
		副査氏名	今井 浩光 

学位申請者は、本論文の公開審査を行い、各審査委員から、研究目的・方法・結果・考察について以下の質問を受けた。

- ① NGPTL4 を knockdown すると hypodiploid cell の細胞が増える。この細胞を sub-G1 population と解釈しているが、どういう意味か？
- ② ANGPTL4 による PI3/Akt 経路の活性化のメカニズムは？
- ③ ANGPTL4 を強制発現しても細胞増殖には影響しないにもかかわらず、rANGPL4 で細胞を刺激した場合には細胞増殖が促進される。発現を増加させれば、培養上清中へも分泌されるため、recombinant を加えた場合と同様の結果が得られるはずではないか？この違いはどのように説明できるか？
- ④ Akt inhibitor が細胞増殖に与える影響を見た Fig. 4E において、DMSO のみで大きく細胞増殖が抑制されているが、このデータは信頼できるのか？
- ⑤ Fig. 3 で示された結果の説明の中で、ANGPTL4 の発現が docetaxel resistance に関連する。さらにこれは apoptosis を阻害することによると結論付けているが、実際に apoptosis を阻害することが示されていないのではないか？
- ⑥ ANGPTL4 の特異的受容体は同定されているか。
- ⑦ ANGPTL4 の機能喪失型遺伝子変異はあるか。その場合、予想される臨床的インパクトは何か。
- ⑧ 低酸素下培養期間の設定根拠は何か。
- ⑨ 統計学的検定で多重性を考慮したか。
- ⑩ 生化学的無再発期間の評価において、早期打ち切り例が多いことが結果に影響を与える可能性はあるか。
- ⑪ ANGPTL4 に関連して、今後どのような新規治療法があり得るか。
- ⑫ 他の hypoxia を誘導するような刺激でも同様の反応は観察できるのか？
- ⑬ 本実験での HIF の誘導は観察できているのか？
- ⑭ Hypoxia によりどのような機序で ANGPTL4 の発現が制御されているのか。
- ⑮ なぜ cleaved form が活性化体と判断しているのか。
- ⑯ 単一の siRNA を用いて ANGPTL4 を knock-down する際、複数の配列を用いないのはなぜか？
- ⑰ stable-transformant を用いて実施しているが、なぜ、transient expression の系では不都合があるのか？
- ⑱ Fig4A 10 pg/ml ANGPTL4 添加では細胞増殖に影響がなく、100pg/ml 添加で増殖している。一方で、10pg/ml 添加で AKT リン酸化は最大になっている。増殖と AKT のリン酸化量との間に相関がないように見えるが、どのようなことが考えられるのか？

これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって、審査委員の合議の結果、申請者を学位取得有資格者と認定した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。