

氏名（本籍）	みかみ ゆか （岡山県）		
学位の種類	博士（医学）		
学位授与番号	甲 第 715 号		
学位授与日付	令和 5 年 3 月 9 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
学位論文題目	Role of the expression of collagen prolyl-4-hydroxylase α subunits 1 and 2 in the development and prognosis of breast cancer		
審査委員	教授 山口 佳之	教授 和田 秀穂	教授 三谷 茂

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

乳癌の進展においては、細胞外マトリックス（ECM）の主成分であるコラーゲンが間質に多く沈着することにより、癌細胞の増殖や浸潤・転移が促される可能性が示唆されている。今回、コラーゲン代謝の主要な翻訳後修飾を担う prolyl-4-hydroxylase（P4H）に着目し、その臨床的意義について検討した。また、上皮間葉転換（EMT）マーカー、低酸素ストレス関連マーカーとも対比し、乳癌の浸潤や転移における P4H の役割について解析した。

2007 年 1 月から 2020 年 12 月の間に川崎医科大学附属病院で手術が施行された、浸潤径 10mm 以上の浸潤性乳癌 182 例（Luminal A-like 型 51 例・HER2 型 48 例・TN 型 83 例）の保存された組織および乳癌細胞株を用いた。年齢・組織型・グレード・脈管侵襲・リンパ節転移などの臨床病理学的因子を再評価した。P4H α subunit 1（P4HA1）および P4H α subunit 2（P4HA2）発現と、癌の悪性度指標マーカー（Ki67・p53）、低酸素ストレス関連マーカー（HIF-1 α 、HIF-2 α ）、EMT 転写誘導因子マーカー（Twist、ZEB-1）の解析には免疫組織染色およびウエスタンブロッティングを用いた。

その結果、正常乳管上皮に比べ、腫瘍細胞では P4HA1・P4HA2 はいずれも発現が増加していた。P4HA1 高発現群では低発現群に比してリンパ管侵襲やリンパ節転移が多かった。一方、P4HA2 では、高発現群は低発現群に比べて特殊な組織型が多く、組織学的悪性度・核異型度が高く、Ki67 が高値を示し、p53 が陽性で、内因性サブタイプは HER2 型・TN 型を示した。P4HA2 発現は HIF-2 α と弱い負の相関を示した。P4HA1・P4HA2 は、全生存期間について有意差は認められず、無再発生存期間については高発現群で短い傾向にあったが、多変量解析では独立した予後因子として抽出されなかった。乳癌培養細胞の検討では、低酸素環境下において P4HA1・P4HA2・HIF-1 α の蛋白発現が時間依存性に増加した。

以上より、乳管上皮細胞が癌化すると P4H 発現はいずれも上昇し、特に P4HA2 に着目した点は特筆され、悪性化の指標として有用で、再発リスクの予測因子となり得ることが示された。このことは、今後の乳癌診療に新たなバイオマーカーの可能性を提示するものであり、臨床応用につながり得る意義深い研究成果と考える。よって、審査者一同、学位論文に値すると評価した。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位審査会では、申請者から、本研究の着想に至った経緯、研究方法、結果とその科学的解釈、ならびに今後の展望についてスライドを用いて約 15 分間で説明がなされた。発表は論理的かつ簡潔にまとめられており、申請者が本研究とその学問的背景について十分に理解していることが伺われた。

その後、審査委員長を含めた3名の審査委員から約15分間で質疑応答がなされた。まず、研究方法における抗体試薬の選定と標準化に始まり、低酸素条件を維持して行う *in vitro* 実験の限界、続いて得られた結果の科学的解釈、すなわち、P4HA1, A2 単一での臨床的意義や多変量解析で予後関連因子として抽出されなかった点、EMT 関連マーカーとの相関性が明らかではなかった点、HIF-2 α と弱い負の相関を示した点、特定の内因性サブタイプでの解析意義、さらに臨床応用されている各種 HIF 阻害薬の影響や非臨床試験の情報および今後の臨床応用について質問がなされた。

申請者は研究手技について苦勞を含めて回答し、膨大な研究をみずからがすべて実施したことが伺えるとともに、すべての質問に真摯な態度で落ち着いた的確に詳しく回答した。また、本研究に基づく今後の展望についても、将来性を含め具体的に論述した。これらの質疑応答から、申請者が専攻分野である形態系分野検証病理診断学全般について深い学識を有していることを明確に評価することが可能であった。

以上より、申請者は最終試験における審査基準の全てを満足し、今後の医学・医療分野において指導的役割を果たすための十分な知識と研究遂行のための能力を有すると判断可能であった。よって、審査者一同、学位授与に値すると評価し、本学位審査を合格と判定した。