

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 邵潤軒

非環式レチノイド (Acyclic retinoid, ACR) は新しく合成されたビタミン A で、既にヒトで HCC 手術後の再発を予防することが実証されている。しかも、他の抗がん剤に見られる様な深刻な副作用もないため、将来有望な化学療法として多くの研究者の興味を引いている。本研究は非環式レチノイドによる HCC の再発予防における分子メカニズムを明らかにするために、まず非環式レチノイドを添加した細胞と非添加の細胞に対し転写因子 array、luciferase reporter assay、cDNA microarray を行い非環式レチノイドの作用標的分子を同定した。更に同定した分子について解析を進め、下記の結果を得ている。

1、非環式レチノイドは濃度依存的に肝癌細胞 HepG2, HLF, HuH7 の増殖を抑制した。

2、非環式レチノイドは FGF receptor 3 の発現抑制を介して、Rho 活性および SRF mediated transcription を抑制し、最終的に HepG2 細胞の増殖を抑制した。

3、FGF Receptor 3 を恒常的に強制発現あるいは basic FGF の過剰量添加により、非環式レチノイドによる HepG2 細胞の増殖抑制作用は減弱した。

4、anti-FGF receptor 3 antibody あるいは RNAi により、FGF receptor 3 発現を抑制すると、非環式レチノイドと同様に HepG2 細胞の増殖抑制作用が認められた。

以上のように、本論文は初めて非環式レチノイドが FGF signaling pathway を抑制することにより HepG2 細胞の増殖を抑制することを証明した論文であり、学位の授与に値すると思われる。

尚、審査会時点から、論文の内容について以下の点が改訂された。

1、Fig 1 の(b) の説明において細胞数を「HepG2 cells were plated at a concentration of 5×10^4 cells/well in 6-well plates.」から「HepG2 cells were plated at a concentration of 1.5×10^4 cells/well in 6-well plates.」に訂正した。

2、Fig 5 はコントロールも入れた棒グラフを新しく作成した。

3、審査会において「FGF 添加後の HepG2 細胞では、なぜ FGF の刺激による増殖作用が認められないか、其の原因について言及すること」との発言があったため、Discussion 36 ページで以下の説明を加えた。「In this study, we have shown that the anti-proliferative effect of ACR was neutralized by the addition of FGF (Figure 6). We noticed that proliferation of HepG2 cells was not stimulated by FGF. Asada et al (71) reported that addition of exogenous FGF stimulated hepatoma-derived cell lines Hep3B, HLE, HLF, Huh6, Huh7, KIM1, Li7, and PLC/PRF/5 proliferation, but didn't stimulate hepatoblastoma-derived cell line HepG2 proliferation. Our results were consistent with their study.」

4、タイトルにおいての繊維芽細胞の「織」を「線」に訂正した。

5、Abstract において「HCC cell」を「HepG2 cell」に訂正した。

6、論文の内容の要旨は方法と結果を分けて書き直した。

7、ACR の副作用について、論文の中に以下の説明を加えた。「The ACR toxicity in the clinical patients was reported by Muto et al(16) that one patient had severe headache and another patient had toxic effects among 45 patients.」