

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㉔ 第	号	氏名	杉木 咲乃
論文審査担当者	主査	医化学	末松 誠	
	先端医科学	佐谷 秀行	外科学	北川 雄光
	病理学	坂元 亨宇		
学力確認担当者	河上 裕		審査委員長	佐谷 秀行
			試問日	平成27年 8月17日
(論文審査の要旨)				
論文題名 : Microscopic imaging mass spectrometry assisted by on-tissue chemical derivatization for visualizing multiple amino acids in human colon cancer xenografts (アミノ基誘導体化試薬を利用した質量顕微鏡イメージングによるヒト大腸がん肝転移モデルにおけるアミノ酸分布の可視化)				
<p>本研究では、アミノ基誘導体化試薬を活用することにより、遊離アミノ酸のイオン化を容易にすることによって質量分析イメージングで組織内分布を定量的に可視化する技術を開発した。ヒト大腸がん肝転移モデルの担がん肝の凍結組織切片を用いアミノ酸の局在を可視化することに成功し、がん部のアミノ酸濃度が宿主の肝組織に比べて高いことを明らかにした。</p> <p>審査では、まず、組織上での誘導体化効率の再現性と、アミノ酸以外のピークの解釈について問われた。前者に対しては誘導体化効率は対象とするアミノ酸によりばらつきがあること、後者については、アミノ酸以外の代謝物のピークの一部は誘導体化試薬と反応できるアミノ基を有する化合物によるものと想定されるが、同定には至っていないと回答された。次に、担がん組織の非がん部のアミノ酸濃度が正常肝に比べて高い理由について質問がなされ、腫瘍内のグルタミノリシスで産生したアンモニアが腫瘍外に放出され、腫瘍周辺組織のオートファジーを誘導することが報告されており、考慮すべき可能性である旨回答された。さらに腫瘍組織内のアミノ酸の消長ががんの増殖能に及ぼす影響について質問され、本論文では示されていないものの、アミノ酸輸送体LAT1をノックダウンしたがん細胞ではほぼすべてのアミノ酸の含量が全体的に低下し腫瘍が顕著に退縮することを示すデータが示された。現在がんの進展に重要な役割を示すとされる肝小葉中心性に局在しているグルタミン (Gln) 合成酵素の役割についても議論がなされたが、少なくとも基質レベルではGlnの局在は小葉内で均一であり、腫瘍部で高値を示すことが確認された。複数のアミノ酸が腫瘍内で同時に増える所見に関してそのリソースについても質問がなされ、がん細胞内のタンパク質の分解と細胞外からの摂取の両方で決定される旨、回答された。本技術は代謝を直接可視化する技術であるため、手術標本での応用は難しいものの、凍結生検検体を利用してアミノ酸分布パターンとがんの化学療法抵抗性などを判断しうる補助的な手法として臨床応用できる可能性があることなど、臨床への展開についても議論がなされた。最後にイメージングにおいて細胞外から摂取されたアミノ酸と細胞内で作られたアミノ酸を区別する手法について質問され、標識体アミノ酸を投与することで同位体イメージングを実施することによりある程度可能であると回答された。個々の組織切片間の質量分析結果の不均一性、隣接組織を用いた定量値測定の妥当性についても質問がなされ、現在はマトリックス塗布の不均一性が自動蒸着法で克服されている旨回答がなされた。</p> <p>以上、本研究には解決すべき課題が残されているものの、可視化が困難であったアミノ酸についてイメージング技術を開発し、担がん組織のアミノ酸の局在を明らかにした点において非常に有意義な研究であると評価された。</p>				