

学位論文審査の結果の要旨

平成30年11月21日

審査委員	主査	上野正樹		
	副主査	荒木伸一		
	副主査	辻真仁		
願出者	専攻	機能構築医学	部門	医用工学
	学籍番号	14D701	氏名	福岡 奈津子
論文題目	SNX-2112 Induces Apoptosis and Autophagy of Nara-H Cells			
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〕(論文要旨)

<目的>

Heat shock proteinはすべての細胞に普遍的に存在する分子シャペロンの1種で、腫瘍増殖に関係する伝達経路であるmTOR経路やMAPK経路の活性にも深く関連している。特にがん細胞由来のHSP90は、正常細胞由来のHSP90に比べ活性が高く、その阻害剤に対する感受性が高いことが分かっており、HSP90阻害剤は腫瘍選択性の高い治療薬となり得ると考えられている。新規HSP90阻害薬の一つであるSNX-2112は、mTOR経路のみならず、MAPK経路など、複数の癌生存に関するシグナル伝達経路の抑制効果があるといわれており、他のがん種においては、臨床試験まで研究が進められている。本研究の目的は、SNX-2112の未分化多形肉腫(UPS)に対する抗腫瘍効果を検証し、化学療法に抵抗性を有することが知られている軟部肉腫に対する治療戦略を考察することである。

<方法>

軟部肉腫細胞株としてNara-H細胞を、抗腫瘍薬としてHSP90阻害剤SNX-2112を使用した。抗腫瘍効果の評価はMTS assayを用いた。Western blot法により、mTOR経路およびMAPK経路の蛋白発現とリン酸化の抑制、更にオートファジーとアポトーシスの誘導を評価した。また、LC-3に対する免疫染色でオートファジーを、Annexin V/PI/Hoechstの3重染色でアポトーシスの形態学的評価を蛍光顕微鏡により行った。更に電子顕微鏡にてオートファジーおよびアポトーシス細胞を観察した。

<結果>

MTS assayではSNX-2112は時間および容量依存性にNara-H細胞に対する抗腫瘍効果を示した。Western blotでは、SNX-2112により時間及び用量依存性にmTOR経路及びMAPK経路のリン酸化抑制効果を認めた。また、オートファジーの発現を表すLC3-II、Atg5-Atg12 complexの発現増強およびP62/SQSTM1の抑制を認め、同時にアポトーシスの発現を示唆するCaspase-9、PARPの発現増強が時間および用量依存性に認められた。蛍光顕微鏡による形態学的評価では、LC3免疫染色試験にてコントロールと比較してオートファゴソームがSNX-2112投与群において増加した。またAnnexin-V/PI/Hoechstの3重染色ではコントロールと比較してアポトーシス細胞の増加が認められた。更に電子顕微鏡ではコントロールに比べ、SNX-2112の投与により、核の断片化を有するアポト

ーシス細胞が多数観察され、その中でオートファゴゾームを有するオートファジー細胞が散見された。

<考察>

本研究ではNara-H細胞株において、SNX-2112の投与によりmTOR経路およびMAPK経路のリン酸化が抑制され、同時に有意な抗腫瘍効果を認めた。また、オートファジーおよびアポトーシス現象が誘導されていることが確認された。これは、mTOR経路の抑制によりオートファジーが誘導され、MAPK経路の抑制によりアポトーシスが誘導されたものと考えられた。オートファジーとアポトーシス誘導の関係については、細胞死が誘導される過程において密接な関係があると思われるが、同時に謎も多く、更なる研究の遂行と分析を要する。本研究の結果から、SNX-2112は単剤使用で複数のシグナル伝達経路を抑制すると同時に有意な抗腫瘍効果を認め、ヒト軟部肉腫に対する有効な化学療法となり得る可能性が示唆された。

本研究に関する学位論文審査委員会は平成30年11月19日に行われた。

本研究は軟部肉腫細胞に対してHSP90阻害剤による抗腫瘍効果の有効性を示唆したもので、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軟部肉腫に対する新たな分子標的治療薬の確立に関して意義があり、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定した。

審査においては、

1. SNX-2112 はゲルダナマイシンと同じ Hsp90 をターゲットとした薬剤であるのになぜ mTOR 及び MAPK 経路の 2 経路を阻害するのか。
2. Hsp90 は正常細胞でも 1-2% 発現しているため、阻害薬の使用による副作用はどうか考えるか。
3. なぜ癌細胞において Hsp90 の発現が高いのか。
4. Hsp90 阻害薬による免疫毒性がでないか。
5. SNX-2112 の半減期はどれくらいか。
6. 臨床応用に際して、単剤で効果があるか、それとも他剤との併用が必要と考えるか。
7. 副作用として生じる肝障害は胆汁うっ滞性の障害か、細胞毒性による障害か。
8. 他の癌腫の腫瘍細胞と Nara-H 細胞で Hsp90 の発現量を比較したか。
9. Akt の発現が増強したのはなぜか。
10. 時間経過としてオートファジーとアポトーシスはどちらが先に起こっているのか。
11. オートファジーは腫瘍細胞のストレス抵抗性か。
12. アポトーシスを誘導する細胞とオートファジーを誘導する細胞に違いがあるか。
13. Hsp90 阻害薬単剤で軟部肉腫に対する抗腫瘍効果は十分期待できるか。

などについて多数の質問が行われた。申請者はいずれにも明確に応答し、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 RESEARCH		第 38 卷, 第 9 号
(公表予定) 掲 載 年 月	2018年 9 月	出版社(等)名	International Institute of Anticancer Research

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。