HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	口腔癌細胞のシスプラチン耐性化に伴うNa, K-ATPase及びouabain感受性の変化［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	平川, 直
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11271号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56310
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Suguru_Hirakawa_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（歯学）　　氏名　平 川　　直

審査担当者　主査　　教授　鄭　　漢忠
副査　　教授　進藤　正信
副査　　教授　鈴木　邦明

学　位　論　文　題　名

Change of Na, K-ATPase and oubain sensivity in oral cancer cells accompanied by acquisition of cisplatin resistence.

（口腔癌細胞のシスプラチン耐性化に伴う Na, K-ATPase 及び ouabain 感受性の変化）

審査は、上記担当者による申請者に対する提出論文と関連事項についての口頭試問により執り行われた。審査を行った論文の概要は以下の通りである。

【論文要旨】

cis-diamminedichloro-platinum(II)(シスプラチン、CDDP)による癌の化学療法においては癌細胞の耐性化が障害となるが、その機序には不明な点も多い。そこで、口腔癌細胞株（Sa3、H1、KB)及びそれらの CDDP 耐性株（Sa3R、 H1R、KBR)と正常歯肉から採取した細胞を用いて、口腔癌細胞の CDDP 耐性化に伴う Na,K-ATPase の変化を中心として検討した。

CDDP による 50%細胞生存濃度（IC_{50})は、H1 と H1R ではそれぞれ 1.5×10^{-4} 及び 7.5×10^{-4} M、Sa3 と Sa3R では 4.5×10^{-3} 及び 5.5×10^{-3} M、KB と KBR では 1.0×10^{-4} 及び 7.0×10^{-4} M であり、正常歯肉細胞は 5.0×10^{-5} M であった。癌細胞は正常歯肉細胞に比べて CDDP 感受性が低く、耐性株はそれぞれの感受性株より低い感受性を示した。Na,K-ATPase 活性は、Sa3 より Sa3R が高く、H1 より H1R がわずかに高値を示したが、KB と KBR で差はなかった。

Ouabain 存在下での各細胞の IC_{50} は、H1 と H1R では 5 及び 20 nM、Sa3 と Sa3R では 80 及び 180 nM、KB と KBR では 40 及び 130 nM であり、正常歯肉細胞は 5 nM であった。この結果から、CDDP 耐性化は ouabain に対する耐性化も伴うことが示唆された。各親株と耐性株間の Na,K-ATPase 活性阻害に対する ouabain 濃度依存性は細胞によって異なり、ouabain に対する耐性化は Na,K-ATPase の変化によるものではないと示唆された。各細胞の P-糖タンパク質と ATP7A の発現を親株と耐性株間で比較したところ、発現量は細胞によって異なった。以上の結果から、CDDP 耐性化のメカニズムは細胞の種類によって異なることと、CDDP 耐性化は ouabain 耐性化を伴うこと

が示唆された。

【審査の内容】

論文審査にあたっては、申請者による学位論文要旨についての説明後、担当者により研究内容および関連事項についての質問を行った。主な質問事項は、1) CDDP 耐性のメカニズム、2)薬剤排出ポンプである多剤耐性たんぱく質（MRP), その遺伝子 MDR1 をなぜ今回の研究では検討しなかったのか？ P-glycoprptein を排出機構の代表として検討したのか？ 3) P-glycoprptein と ATP7A の耐性メカニズムの違いはどこにあるか？ 4) Sa3R では Na, K-ATPase、P-glycoprptein と ATP7A ともに活性が上がっており、他の耐性株に比べて CDDP 高度耐性であること、KB,H1 はそれぞれ P-glycoprptein、ATP7A が単独で活性が上がっているが、Sa3 に比べて耐性が低いという結論をどのように考えるのか？ 5)今回の結論を、たとえば Na, K-ATPase と P-glycoprptein の活性比率でみて、臨床的に CDDP の 抗腫瘍効果を予測できるような検討はいかがか？ 6) Na, K-ATPase の遺伝子レベルでの検討は意味があるか？ 7)ウアバイン耐性化の持つ意味は？などであった。これらの質問に対しては申請者から適切かつ明快な回答および説明が得られ、研究の立案と遂行ならびに結果の収集とその評価について、申請者が十分な能力を有していることが確認された。本研究結果はがん細胞によってさまざまなシスプラチン耐性メカニズムを有する可能性を示唆するものとして意義深いものであることが高く評価された。申請者は、関連分野にも幅広い学識を有し発展的研究にも意欲的であり、今後の研究についての将来性も期待される。

本研究業績は糖尿病患者ならびに閉経後の患者の骨粗しょう症発生のメカニズムの解明にも寄与すること大であり、博士（歯学）の学位に値するものと認められた。