



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	腫瘍溶解ウイルスと5-FUとの併用効果の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	金山, 純一
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13055号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70714
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Junichi_Kanayama_review.pdf, 審査の要旨



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 金 山 純 一

主査 教授 北 川 善 政
審査担当者 副査 准教授 東 野 史 裕
副査 教授 鄭 漢 忠

学 位 論 文 題 名
腫瘍溶解ウイルスと 5-FU との併用効果の検討

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。申請者より提出された論文の概要は以下の通りである。

化学療法は、がんに対する一般的な治療法の一つであるが、治療抵抗性を示すがんに対しては十分な効果が得られない場合がある。また、副作用による患者のQOLの低下を考慮すると、可及的に低濃度での使用が望ましい。そこで、様々な治療法との併用が考えられている。近年、新たながん治療法として注目されている腫瘍溶解ウイルス療法は、高いがん細胞特異性により、副作用のリスクを低減しつつ高い治療効果が期待できる。本研究では、がん細胞に対する腫瘍溶解アデノウイルス d1355 と抗がん剤 5-FU との併用効果を検討した。

HeLa 細胞に対する 5-FU の効果を確認するために、様々な濃度の 5-FU を添加した。その結果、HeLa 細胞は 5-FU に対して感受性を示し、用量依存的に細胞数が減少した。

次に、HeLa 細胞を用いて、5-FU 処理後の細胞質分画の HuR タンパク量をウェスタンブロッティング法で比較した。その結果、5-FU で処理していない細胞の細胞質 HuR の量と比較して、処理した細胞では、細胞質の HuR タンパク量が、5-FU 処理 30 分後から増加し、少なくとも 24 時間後まで増加し続けた。また、同じ条件で、免疫細胞染色法を用いて、HuR タンパクの局在を確認した。その結果、上述のウェスタン法の結果と同様に、5-FU 処理を行った 30 分後から、HuR の細胞質局在が観察できた。この結果より、5-FU 処理により、早期に HuR の細胞質局在が促進され、その後もこの局在が維持されることが明らかになった。

さらに、HeLa 細胞、シスプラチン耐性口腔扁平上皮がん細胞株の SAS-4 細胞、およびシスプラチン感受性口腔扁平上皮がん細胞株の SAS-5 細胞を用い、d1355 単独、5-FU 単独もしくは両者併用で処理し、XTT アッセイと CPE アッセイによ

り細胞死を検討した。HeLa 細胞を用いた検討では、dl355 単独ではあまり効果が認められなかったが、5-FU 単独処理では細胞数が半分以下に減少し、両者を併用した場合、さらに大幅に細胞数が減少した。また、SAS-4 細胞および SAS-5 細胞を用いた検討でも、両者併用した場合に、大幅な細胞数の減少を認めた。なお、併用効果の細胞数減少は、統計学的にも有意な差を認めた。また、同じ条件で、各処理による細胞死活性を CPE assay で検討した。その結果、上述の XTT assay の結果と同様に、併用処理により生細胞はほぼ消失した。これらの結果は、dl355 と 5-FU の併用は、腫瘍溶解に有効であることを示しており、協調的にがん細胞に対する dl355 の腫瘍溶解効果が上昇することを示している。

本研究により、dl355 と 5-FU との併用は有効であることが明らかになった。dl355 の腫瘍溶解効果促進の理由として、5-FU 処理により、HuR の核外輸送が促進され、ARE-mRNA が安定化された結果、dl355 がより増殖し、細胞溶解効果が上昇したと考えられる。以上より、腫瘍溶解アデノウイルス dl355 と抗がん剤 5-FU との併用療法は、がん、およびシスプラチンに耐性を持つ口腔がんに対しても有効な治療法となる可能性を示している。

引き続き、提出論文の内容および関連した学問分野について、以下の項目について質疑応答がなされた。

- (1)腫瘍溶解アデノウイルス dl355 の名称の由来、XTT アッセイと MOI の正式名称
- (2)併用実験のスケジュール、5-FU 濃度、ウイルスの MOI の決定方法について
- (3)HuR の細胞質局在を促進するストレスとなる要因や維持時間について。
- (4) 5-FU 処理による正常細胞での HuR の細胞質局在上昇について。
- (5) シスプラチン耐性口腔がん細胞に対して 5-FU を使用したことについて。
- (6)扁平上皮がんの組織型によるアデノウイルスの感染効率の違いについて。
- (7)ウイルスの感染効率の測定方法について。
- (8)腫瘍溶解アデノウイルスの実用化について。

以上の質問に対して申請者から適切かつ明確な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通じて、申請者が本研究ならびに関連分野に対する理解が十分になされており、幅広い知識を有していると考えられ、本研究のさらなる発展、進展が期待された。

以上のことから、審査委員会は全員、本研究が学位論文に十分値し、申請者が博士(歯学)の学位を授与される資格を有する者と認めた。