HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	BET阻害がDNA修復機構に与える影響及びBET阻害薬を用いた新たな非小細胞肺癌治療の開発に関する検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	高島, 雄太
Description	配架番号：2464
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13450号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74762
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuta_Takashima_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（医　学）　　氏名　高　島　雄　太

審査担当者	主査	准教授	鬼　丸　力　也
	副査	教　授	松　野　吉　宏
	副査	教　授	南須原　康　行
	副査	教　授	近　藤　　亨

学位論文題名

BET 阻害が DNA 修復機構に与える影響及び BET 阻害薬を用いた
新たな非小細胞肺癌治療の開発に関する検討
(The study of the impact of BET inhibition on DNA damage repair and a new treatment strategy using BET inhibitors for non-small cell lung cancer)

がんの発症や増殖には遺伝子自体の異常に加え、エピジェネティックな異常が関与していることが明らかとなり、エピジェネティクスを標的とした治療の開発が様々な癌種で精力的に行われている。BET（bromodomain and extraterminal domain）ファミリータンパクの阻害薬は様々な遺伝子の転写を抑制して多くの癌腫に対して抗腫瘍効果を示すが、詳細な作用機序は不明である。近年、BET 阻害薬が DNA2 本鎖切断（double-strand break: DSB）の修復を抑制することが報告された。WEE1 キナーゼは細胞周期を G2 期に留まらせる働きをもっており、WEE1 阻害薬である AZD1775 は強制的に細胞周期を進めることで DSB を起こし、分裂期細胞死を誘導することで様々な固形癌に対して抗腫瘍効果を示すことが報告されている。そこで、BET 阻害薬は WEE1 阻害薬がもたらす DNA 損傷を増強することで抗腫瘍効果を高めることができ、この 2 剤併用療法は非小細胞肺癌に対する新たな治療戦略となりうるのではないかと考え、併用効果の確認とその機序の解明を行った。
非小細胞肺癌細胞 A549、H1299、H1975 において BET 阻害薬と WEE1 阻害薬は相乗的な抗腫瘍効果を示した。2 剤の併用は γH2AX のタンパク発現を増加し、強い DSB を起こした。BET 阻害薬は WEE1 阻害薬によって生じた γH2AX のタンパク発現を遷延し、DSB の修復遅延を生じさせた。BET 阻害は非相同末端結合（non-homologous end joining: NHEJ）機構関連遺伝子の発現を抑制し、NHEJ 機構による DSB 修復能を低下させた。細胞周期の検討では、2 剤の併用により M 期への移行が著明に増加しており、それには BET 阻害がもたらす MYT1 抑制が関与している可能性が示唆された。異種移植マウスモデルを用いた実験でも細胞実験と矛盾しない結果が得られた。
発表後、副査の松野教授から、使用した 3 つの細胞株の選択理由について質問があった。WEE1 阻害薬は *p53* 遺伝子に異常を持っている細胞で高い抗腫瘍効果を示すことが報告されており、*p53* 遺伝子が 2 剤の相乗効果に及ぼす影響を検討するために *p53* 遺伝子の状態が異なる 3 つの細胞株を選択したと回答した。また、細胞株の持つ *p53* 遺伝子以外の遺伝子特徴によって相乗効果の強さや、DSB 修復機構や細胞周期に与える影響が異なっているではないか、バイオマーカーになりうる因子の探索が重要なのではないかと指摘を頂いた。ご指摘頂いたようにバイオマーカーとなりうる因子の探索は重要であり、そのためにはさ

らに複数の非小細胞肺癌細胞株や非小細胞肺癌以外の細胞株を用いた検討が必要であると考えていると回答した。副査の南須原教授から、BET 阻害薬及び WEE1 阻害薬の副作用についての質問があった。両薬剤とも、主な有害事象として嘔気や下痢といった消化管毒性、血小板減少症をはじめとした骨髄抑制が報告されているが、忍容性に問題はないと考えられており、さらなる臨床試験がそれぞれ進行中であると回答した。副査の近藤教授から、正常細胞における BRD4 の発現状況、WEE1 及び MYT1 による CDK1 のリン酸化部位についての質問があった。申請者が調べた範囲では BRD4 は様々な細胞で発現していること、主に WEE1 が CDK1 の 15 番目のチロシン残基を、MYT1 が 14 番目のスレオニン残基をリン酸化していることを回答した。また、WEE1 阻害薬単独投与後に BET 阻害薬を投与し、DSB の経時的変化を確認する実験を行っているが、今後臨床応用などを検討していくにあたっては BET 阻害薬を投与するタイミングの検討も重要なのではないかと指摘を頂いた。主査の鬼丸准教授から、BET 阻害薬及び WEE1 阻害薬と放射線照射の併用に関する報告の有無について質問があった。両薬剤ともに放射線照射と併用することで強い抗腫瘍効果を示すことが報告されていると回答した。また、肺癌治療で現在使用されている薬剤の中で申請者が BET 阻害薬との併用効果が期待できると考える薬剤はあるかと質問があった。DNA 損傷を起こす白金製剤との併用が有効なのではないかと考えていること、BET 阻害薬は小細胞肺癌でも研究が行われており、小細胞肺癌に関してはエトポシドとの併用が有効なのではないかと考えていると回答した。

審査員一同は、これらの結果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。