HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	膠芽腫幹細胞を用いた創薬スクリーニング系の構築と新規抗腫瘍薬の同定に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	越前谷, すみれ
Description	配架番号：2507
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14044号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77865
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Sumire_Echizenya_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　越前谷　すみれ

	主査	教授	田中　伸哉
審査担当者	副査	准教授	志賀　哲
	副査	教授	真部　淳
	副査	教授	佐邊　壽孝

学 位 論 文 題 名

膠芽腫幹細胞を用いた創薬スクリーニング系の構築と新規抗腫瘍薬の同定に関する研究
(Studies on establishment of drug screening system using a glioblastoma-initiating cells and identification of novel antitumor drug)

悪性神経膠腫に対する新規抗癌剤の取得を目的として、当研究室で樹立された膠芽腫幹細胞株 (Glioblastoma-initiating cells；GICs)を用いて、標準治療薬である Temozolomide（TMZ）耐性株を作成し、企業との連携で大規模化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、候補化合物を選択しその治療効果および作用機序を検証した研究である。候補化合物は、GICs に対し抗腫瘍効果を有しかつ正常細胞に対する毒性が少ないことに加えて、治療標的が複数あり、互いに独立しその抗腫瘍効果を補完しあっているという点で興味深く、新規治療法の確立に向けて、新たな可能性を見出した点で意義があると考えらえる。

審査にあたり、まず副査の佐邊教授から、核内移行に関連する糖鎖修飾は他にどのような因子があるのかという質問があり、申請者はβカテニンと NF-κB が報告されていると回答し、NF-κB で relA に関わる経路であれば炎症に、relB に関わる経路であれば細胞増殖に関わると考えられると答えた。さらに、他の癌細胞での有効性、即ち治療標的である SOX2 は GICs に特異的な stemness factor であるのかという質問があり、使用した細胞株では細胞生存に必要とされると考えられるが、他の癌細胞での SOX2 の発現その他に関しては調べておらずわからないと回答した。また、実際に臨床へ応用するとなれば、治療効果がどれほどの generality を有するかを多種の癌細胞を用いて解析したり、幹細胞性に関わる転写因子が同様に糖鎖修飾を受ける必要があるかどうかということ、薬剤副作用も解析する必要があると指摘を頂き、ご指摘通り非常に限局した条件での解析であり今後 generality に対する議論が必要であると回答した。

続いて副査の真部教授より、事後で類似化合物が選ばれた理由に関し質問があり、物性が安定せず候補に残らなかったため、再度、化学構造が似ている化合物の提供を頂き、解析したと回答した。それらには初回評価で落ちた物もあったが、初期評価は化合物を減らす事に

主眼があり繊細なアッセイではなかったことが要因として考えられると回答した。また、当研究室と富士フイルムの本研究における役割分担に関する質問があり、当研究室としては、ヒトの膠芽腫から樹立したGICsを提供・使用することと当研究室で得られた当該株の幹細胞性などの知見を共有する役割があり、富士フイルムは化合物の提供及び薬理学的知識・評価であると回答した。それに対し、今後の共同研究はどうなるかと質問があり、長期的には脳腫瘍にも適応があれば臨床研究は当脳神経外科が主体となって行いたいと答えた。また、候補化合物の血液脳関門(BBB)の通過性の評価法に関する質問があり、化合物をマウスに投与した後に脳を切出し、細砕された脳の化合物濃度を質量分析計で測定したと回答した。また、他の癌細胞株への有効性はどうかと質問があり、富士フイルムにおいて他の癌種への有効性が確認され臨床応用も視野に入れていると報告されたと回答した。更に、既知のDHODH阻害剤が他の癌種への有効性及びその BBB 透過性に関する質問があり、Brequinar などのDHODH 阻害剤が肺小細胞癌での有効性が報告されているが透過性に関してはわからないと回答した。また、BBB不透過に関して、大量投与で頭蓋内移行性を補完したり、髄腔内投与を試行してみるなどは今後考えているかという質問があり、研究室では当初より、ギリアデル脳内留置用剤(GLIADEL carmustine wafer)のように直接腫瘍に接触させるタイプの開発が必要となってくると予想していたが、確かに様々な投与方法における評価も必要であると回答した。

引き続き、副査の志賀准教授より膠芽腫においては BBB が破綻しており抗腫瘍薬が届く可能性があるが、正常（マウス）脳への投与ではわからないのではないかという御指摘があり、その通りであり、担癌マウスにおける組織内・腫瘍内濃度を測定した場合には評価が変わった可能性があると回答した。高悪性で予後不良の疾患であるため、投与経路や用量に関して更に積極的・アグレッシブになる事が必要ではないかという御指摘を頂き、その通りであり、もう少し研究期間があればそれらに関する検証を行いたかったと回答した。

最後に、主査の田中教授より、申請者の当該研究における研究担当領域はどこかという質問があり、化合物のスクリーニングとマウス投与実験の一部であると回答した。更に実験での労力を割いた点に関しては、浮遊細胞である幹細胞のアッセイにおいて、通常のMTTアッセイでの安定した評価が困難であったため、生存評価を目視で行い細胞の数を測定したことであると回答した。また、他の幹細胞マーカーの解析有無に関して質問があり、期間中には当研究室で GICs での発現パターンを把握している SOX2 を優先することとなったと回答した。最後に、化合物の脳内留置は有用であるかという質問があり、神経膠腫は浸潤性であり出腔壁留置のみではその接触面数ミリの制御となる可能性があるため、やはり全身投与し脳実質へ拡散するタイプの開発が望まれると回答した。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院過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）の学位を授与されるのに充分な資格を有すると判定した。