



Title	新規口腔がん治療法開発のための個体解析基盤の創出 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	木村, 拓
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15501号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89637
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Taku_Kimura_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 木村 拓

審査担当者

主査 教授 北川 善政
副査 教授 樋田 京子
副査 教授 大廣 洋一

学位論文題名

新規口腔がん治療法開発のための個体解析基盤の創出

審査は、審査担当者全員の出席のもと、Web形式の公聴会として行われた。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。以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

口腔がんは頭頸部がんの約半分を占め、病理組織学的分類では約90%が扁平上皮がんである。口腔がんの罹患者数は世界的に増加傾向にあるが、有効な治療法は未だ確立されていない。これまで培養ヒト細胞株やモデルマウスを使用した研究が行われているが、口腔がんの遺伝子変異は多様であり、新規治療法の開発は困難を極めている。

そこで本研究で申請者は、新規口腔がん治療法の効率的な開発を目指し、口腔がん患者の遺伝子型を模倣した新規モデルショウジョウバエの創出に着手した。実際に申請者の所属研究室はこれまでに、様々ながんの遺伝子型モデルハエと哺乳類実験系を相補的に活用した独自の研究基盤を駆使して、甲状腺髄様がんや膵がんの治療薬シーズの同定に成功している。

本研究で申請者はこの基盤に立脚し、ヒトパピローマウイルス（HPV）陰性口腔がん患者の遺伝子型を模倣したモデルハエの創出に取り組んだ。申請者の所属研究室は、酵母由来の *GAL4-UAS* 転写制御系を利用して、ハエの任意の組織や細胞種に外来遺伝子を発現する系を確立している。この系を利用すべく、まず申請者は、翅原基の扁平上皮細胞で転写因子 *GAL4* を発現する *Ultrabithorax* (*Ubx*)、*Grunge*、*teashirt-GAL4* ドライバーハエを同定した。さらに申請者は、口腔がん患者で観察される変異遺伝子 (*TP53*^{R248Q}、*TP53*^{R248Q}、*CDKN2A*、*PIK3CA*^{E545K}、*EGFR*) と構造的あるいは機能的に相同なハエ遺伝子 (*dp53*^{R234Q}、*dp53*^{R234Q}、*dCycE*、*dPi3K92E*^{D572K}、*dEGFR*) を同定し、各遺伝子のcDNAを導入したUASハエ群を創出した。

次に申請者は、これらUASハエ群に導入した遺伝子が先行研究と類似した機能を有するか検証すべく、先行研究で多用される複眼や翅原基をモデル組織とする表現型解析を実施した。その結果申請者は、上記4つのハエ遺伝子が期待する機能を有していることを確認した。

また申請者は、*Ubx>GFP* ドライバーハエと多様な遺伝子変異の組み合わせを導入した

UASハエ群をそれぞれ交配し、口腔がん遺伝子型モデルハエを8系統作出した。このうち、*dp53*^{R234Q}、*dCycE*、*dPi3K92E*^{D572K}を導入したモデルハエは最も低い生存率を示した。さらに、*patched>GFP*ドライバーハエを使用して扁平上皮細胞における表現型を解析した。その結果申請者は、発現させた変異遺伝子の蓄積に伴い、扁平上皮細胞の過形成が顕著になることを見出した。

申請者は今後、口腔がん遺伝子型モデルハエを使用して、薬物スクリーニングを実施し新規口腔がん治療薬候補を個体レベルで同定することを目指している。そこで、これらの候補が口腔がん細胞に与える影響を検証する実験系を構築すべく、ヒト口腔がん細胞株を使用し、Spheroid forming assayおよびSoft agar assayを実施した。その結果申請者は、SASはスフェロイドおよびコロニー形成能を有していることを見出した。

以上の結果より申請者は、新規口腔がん治療薬候補や新規治療標的候補を同定するための個体解析基盤の創出やヒト口腔がん細胞実験系の構築に成功した。さらには本解析基盤を応用することで、患者の遺伝子型に合わせた個別化医療の提供も可能になることが示唆された。

上記の論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1. 各注目遺伝子の表現型解析で、遺伝子に応じてモデル組織を変更した理由。
2. ヒト*TP53*とハエ*dp53*の機能の違い。
3. ハエ上皮組織の形成不全モデルに対しての薬物投与等の実験計画について。
4. 口腔がん遺伝子型モデルハエを個別化医療へ応用する方法。
5. ハエを使用して治療抵抗性と関連のある遺伝子変異やマーカーの探索の可否。
6. 口腔がん遺伝子型モデルハエは第一世代以降も同じ遺伝子型を保存することができるか。
7. 口腔がん遺伝子型モデルハエの創出に*Ultrabithorax-GAL4*を選択した理由。

これらの質問に対して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を確認した。本研究業績はハエを使用した世界初の口腔がん遺伝子型モデル動物であり、口腔がん新規治療法の開発に大きく貢献することが期待され、審査担当者全員は、申請者が博士（歯学）の学位を授与されるに相応しいと認めた。