



Title	非小細胞肺癌における非相同末端結合阻害によるパクリタキセル耐性克服に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	辻, 康介
Description	配架番号 : 2808
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15648号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/90960">https://hdl.handle.net/2115/90960</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	TSUJI_Kosuke_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 (医 学)      氏 名 辻 康 介

主査 教授 松 野 吉 宏  
審査担当者 副査 教授 加 藤 達 哉  
副査 教授 田 中 伸 哉

### 学 位 論 文 題 名

非小細胞肺癌における非相同末端結合阻害によるパクリタキセル耐性克服に関する研究  
(Studies on overcoming paclitaxel resistance by inhibition  
of non-homologous end joining in non-small cell lung cancer)

パクリタキセルは微小管の脱重合を阻害することで細胞分裂を阻害して抗腫瘍効果を示す薬剤である。Mitotic slippage とは細胞質分裂なしで早期に細胞分裂を終了させ、G1 期に移行する現象であり、パクリタキセル耐性の機序の 1 つと考えられている。G1 期での DNA2 本鎖切断 (double-strand break: DSB) は非相同末端結合 (non-homologous end joining: NHEJ) のみによって修復されるため、mitotic slippage 後の DSB は NHEJ により修復されると考えられる。申請者は、mitotic slippage によりパクリタキセル誘導性 DSB が G1 期に移行した後で NHEJ 修復を阻害すればアポトーシスを増強できるという仮説に基づき、非小細胞肺癌細胞株に対する NHEJ 阻害薬とパクリタキセルの併用効果を検討した。パクリタキセル耐性非小細胞肺癌細胞株 H1299 ではパクリタキセル処理後に mitotic slippage が増加したが、この細胞株において NHEJ 阻害薬はパクリタキセルが誘導する細胞毒性、DSB、アポトーシスを有意に増強し、異常な有糸分裂に影響することなく、mitotic slippage 後の細胞死を増加させた。新たに作製したパクリタキセル耐性獲得細胞株においても NHEJ 阻害薬によりパクリタキセルの感受性が回復し、またドセタキセルは NHEJ 阻害薬との併用効果を示した。

審査にあたり、まず副査の加藤教授から (1) NHEJ 阻害薬が生理的な増殖細胞に及ぼす影響や副作用について、(2) mitotic slippage 後に post-mitotic death とならなかった細胞の運命について、(3) A549 と A549-PR の比較による分子的機序の検討は mitotic slippage を経験する細胞の割合が少ないので全体像を見ても差が出ないのではないかと、という点について質問があり、申請者は (1) NHEJ 阻害薬である DNA-PKcs 阻害薬での第 I 相試験の結果では嘔気、下痢、皮疹などの副作用が報告されており、他の抗癌剤と同様に細胞周期の進行が速い消化管や皮膚に影響が出る可能性があること、(2) 24 時間の観察期間内に細胞死とはならなかったが、そのまま生存し続ける細胞とその後に細胞死となる細胞がいる可能性があること、(3) 指摘のとおりだが個々の細胞での評価は困難であり今後の検討課題であることを回答した。副査の田中教授から (1) NHEJ 修復レポーター試験での H1299 以外の細胞での結果について、(2) NHEJ 修復活性低下の効率とパクリタキセルとの併用効果は比例しているのか、(3) in vivo の実験の検討について、(4) 実際の患者の肺癌細胞で NHEJ 機能の低下はみられるのか、という点について質問があり、申請者は (1) NHEJ レポータープラスミドが H1299 にしか遺伝子導入できず他の細胞では評価できていないこと、(2) 比例は

明らかではなく A-196 および JQ1 のいずれでもパクリタキセルと併用効果があったこと、(3) 今後 NHEJ 阻害薬である DNA-PKcs 阻害薬で検討していること、(4) がんゲノムプロファイリング検査以外で DNA 損傷修復に関わる遺伝子を調べることは困難であり実際の患者での詳細は不明であることを回答した。最後に主査の松野教授から (1) 非小細胞肺癌のパクリタキセル耐性現象全体に占める mitotic slippage の関与の割合について、(2) NHEJ 修復レポーター試験は一般的な方法であるのか、(3) パクリタキセルと NHEJ 阻害薬の併用が mitotic slippage から post-mitotic death までの時間を短縮したという実験結果の解釈について質問があり、申請者は (1) 検索した限りでは不明であり、バイオマーカーが判明したら今後の治療対象の選択に寄与することが考えられること、(2) 2008 年に Bennardo らにより報告された方法でこの研究領域では一般的に用いられていること、(3) mitotic slippage 後すぐの G1 期で細胞死が多く起こっていることを示唆する結果であることを回答した。なお、(3) に関する解釈と本研究の限界についての考察を学位論文に追加するように指示があった。

この論文は、NHEJ 阻害は内因性あるいは獲得パクリタキセル耐性を克服する手段となりうることを明らかにし、NHEJ 阻害とパクリタキセルの併用が非小細胞肺癌に対する新たな治療戦略の 1 つになる可能性を示した点において高く評価され、今後の非小細胞肺癌の治療において重要な役割を果たすべく発展することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、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。