

氏名	村井 佐臣		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9056号		
学位授与年月日	平成 31年 3月 25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Vulnerability Caused by Suppression of Cancer-related Genes in Cancer Cells (がん関連遺伝子の抑制により誘引されるがん細胞の脆弱性に関する研究)		
主査	筑波大学教授	博士 (理学)	中田 和人
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	千葉 親文
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	桑山 秀一
副査	筑波大学教授	博士 (医学)	千葉 智樹

論 文 の 要 旨

2015年の人口動態統計によると日本人の3.5人に1人はがんで死亡し、1981年以降死因の第1位を維持している。これまで、がんの治療方法としては、化学療法、外科手術、放射線療法などが主流であったが、最近では、分子標的薬やがん免疫治療薬など非常に高い治療効果を示す治療薬が見出され、がんの薬剤治療は大きく進展している。しかしながら、多くのがんにおいて、未だに根治は難しい状況が続いていることから、現在においても、がんはアンメットメディカルニーズの高い疾患として位置づけられている。がんの治療を困難にしている要因としては、がんには多種多様な臓器由来のがんが存在するものの各々に最適の薬剤が十分に開発・選択されていないこと、耐性獲得により不応性のがん細胞が増殖してくること、また、腫瘍が有する異質性のために単一の薬剤では腫瘍を構成するすべての細胞系列を抑制できないこと、などがあげられる。このようながんという疾患の特性に起因する要因に加えて、治療薬の研究開発費の高騰や治療薬の費用対効果が問題視される医療経済学的要因が重なって、近年のがん治療薬の臨床開発においては薬剤のもつポテンシャルを最大化し、薬剤開発の成功確率を高めるためのトランスレーショナルリサーチが重要視されている。このような動向に伴い、新薬開発過程においては前臨床研究の段階から患者層別化マーカーやメカニズムに基づく標的腫瘍の選択、効果的な併用療法の治療戦略立案が求められるようになってきている。

近年、がん研究の分野で合成致死 (synthetic lethality) という新概念が提唱され、新たながんの治療アプローチとして注目されている。予後が非常に悪いすい臓がんはその多くが *K-ras* 遺伝子に突然変異を有するが、*K-ras* 自体は低分子化合物との親和性を示す指標として用いられる *druggability* が低いことが知られており、低分子治療薬の直接的な標的とならないことが課題であった。ここに合成致死の概念をあてはめると、突然変異型の *K-ras* を保有するがん細胞に脆弱性に関わる遺伝子 *X* が存在した場合、この遺伝子 *X* を治療標的とすることで突然変異型の *K-ras* を保有するがん細胞を治療できることになる。本論文において著者は、この合成致死の概念をがんの併用療法にも応用することが可能であることを実験的に証明することを目的として研究を行った。

Aurora Bは細胞分裂に關与するキナーゼである。Aurora Bを阻害すると細胞分裂における染色体複製は完了するが、細胞質分裂が異常となり、polyploid細胞となってしまう。Polyploid細胞は染色体量の増加により細胞周期が抑制されることから、結果として、Aurora Bの阻害はがんの増殖抑制効果をもたらす。このことから、Aurora B阻害薬はがん治療薬として開発が進んでいるが、一方で、Aurora B阻害薬は細胞に積極的なアポトーシスを誘導しないため、腫瘍の抑制効果は限局的である。そこで、Aurora B阻害薬の併用戦略を立案するため、siRNAを用いた遺伝子抑制の網羅的スクリーニングにより Aurora B阻害剤に誘発されたpolyploidy細胞の生存に關わる遺伝子を探索した。その結果、著者は、ミトコンドリアの外膜でanti-apoptoticに作用するBcl-xLが polyploidy細胞の生存に重要であること、ならびに、polyploid細胞がBcl-xLの阻害に対して脆弱性を示すことを実験的に証明した。

Malic enzyme 1は細胞質内に局在し、ミトコンドリアのクエン酸回路から供給されるリンゴ酸を基質としてピルビン酸とNADPHを産生する酵素である。NADPHは細胞内還元反応の補酵素として機能し、グルタチオンの産生に關わるなど細胞質内の酸化還元の恒常性維持に重要な役割をもつため、Malic enzyme 1はNADPHの産生を介して間接的に細胞の恒常性に關わることを知られている。そこで、がん細胞におけるMalic enzyme 1の発現量を検討した結果、複数のがん細胞において高発現していることを確認し、Malic enzyme 1の発現抑制がこれらのがん細胞の増殖が抑制されることを見出した。また、Malic enzyme 1を抑制した際に、ペントースリン酸経路が活性化していることが分かった。ペントースリン酸経路はグルコース代謝経路から分岐する代謝経路であり、細胞内のNADPHの産生に重要であることが知られている。これらの結果は、ペントースリン酸経路がMalic enzyme 1抑制時の NADPH 供給源になっている可能性を示唆していた。そこで著者は、培養液中のグルコース濃度を低下させた条件下でMalic enzyme 1を抑制したところ、酸化ストレスマーカーの上昇と共に、相乗的ながん細胞の増殖抑制が確認された。これは、がん細胞においてMalic enzyme 1とペントースリン酸経路が NADPH 供給源として細胞内の酸化還元の恒常性維持に重要な役割を果たしており、一方が抑制された場合、もう一方の代謝経路に対して細胞が脆弱性を示していることを示唆している。

審 査 の 要 旨

著者は、がん標的遺伝子である *Aurora B* もしくは *Malic enzyme 1* を抑制した際のがんの脆弱性に關する細胞応答機構を明らかにすることで、*Aurora B* 阻害剤もしくは*Malic enzyme 1* 阻害剤の併用パートナーとして最適な標的を見出すことに成功している。*Aurora B* 阻害はミトコンドリア外膜に局在するBcl-xLとの共阻害によって併用効果を示すことを実験的に立証している。また、*Malic enzyme 1* はミトコンドリアのクエン酸回路で代謝されるリンゴ酸を基質として NADPH を産生することからその作用が細胞内の恒常性維持に重要であることを示し、*Malic enzyme 1* 阻害がグルコース代謝経路との共阻害によって併用効果を示すことを実験的に立証している。これらの結果から、著者はがん細胞の脆弱性を標的とした合成阻害ががん治療に有効であることを提案するに至った。本研究の成果は、がんの薬剤抵抗性や悪性化の機構を解明しようとする基礎研究領域において獨創性に秀でており、学問的価値が高いと評価された。総じて、本研究は優れた生物科学的な成果であると評価された。

平成31年1月29日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、關連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。