




学位論文審査の結果の要旨

令和 6年 8月 28日

審査委員	主 査	杉元 幹史			
	副主査	三木 宗元			
	副主査	西山 成			
願 出 者	専攻	医学	部門	(平成27年度以前入学者のみ記入)	
	学籍 番号	19D719	氏名	寒川 泰	
論 文 題 目	Systemically administered D-allose inhibits the tumor energy pathway and exerts synergistic effects with radiation				
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格	<input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

〔 要 旨 〕

希少糖である D-アロースは、様々な種類のがん細胞において抗腫瘍効果を発揮することが示されている。D-アロースはチオレドキシシ相互作用タンパク質 (TXNIP) および p27kip1 タンパク質の安定化を特異的に誘導することにより、新規抗がん剤として作用することが示唆されている。我々は以前、頭頸部扁平上皮がんにおける D-アロースの抗腫瘍効果を検討し、投与後に腫瘍細胞で TXNIP が過剰発現することを示した。チオレドキシシは強力な抗酸化物質および酸化還元調節物質として働く。その過剰発現は様々ながん種で検出されており、予後不良と関連している。対照的に、TXNIP は様々ながん種で発現低下しており、発現低下が予後に関連するといわれている。したがって、がん細胞で TXNIP の発現をアップレギュレートする D-アロースは、抗腫瘍剤としての可能性を秘めている。我々は以前、D-アロースの局所注射が in vivo モデルにおいて腫瘍増殖を抑制することを証明したが、全身投与が in vivo モデルにおいて抗腫瘍効果を発揮するかどうかは不明である。全身投与による効果の確認は、他の臓器のがんだけでなく、頭頸部がんにおいても、局所投与だけでは到達できない困難な領域が存在するため、必要不可欠である。全身投与と局所注射の薬物動態は著しく異なるため、我々は in vivo モデルを用いて、D-アロースを腹腔内投与した場合に血液や腫瘍組織にどの程度移行し、抗腫瘍効果を発揮するかどうかを検討した。また、解糖ストレス、ATP 産生の変化、およびシグナル伝達経路に対する D-アロースの影響も評価した。

D-アロースと D-グルコースの血中、腫瘍組織への移行

12 匹の HSC3 (tongue carcinoma) 移植マウスを 4 群に分けた。D-アロースと D-グルコース投与 10 分後、30 分後、60 分後、90 分後に血液と腫瘍組織を採取し、D-アロースと D-グルコースの血中濃度、腫瘍組織への移行を調べた。

腫瘍移植マウスを用いた D-アロース腹腔内投与の抗腫瘍効果、放射線併用効果

24 匹のマウスを無作為に 4 群 (①生理食塩水を週 5 回腹腔内投与する対照群、②50mM の D-アロース 0.2ml を週 5 回腹腔内投与するアロース群、③4Gy の放射線を週 2 回照射する RT 群、④50mM

D-アロース 0.2ml を週 5 回腹腔内投与+4Gy の放射線を週 2 回照射する RT+アロース群)に分けた。治療期間は 21 日目まで、観察期間は 35 日目までとした。各群の経時的な腫瘍体積を測定した。

In vitro と in vivo (HSC3 移植マウス) において、TXNIP の mRNA の発現をリアルタイム PCR で調べた。D-アロースの MAPK・AMPK キナーゼ系への影響についてウエスタンブロットで調べた。解糖ストレスと ATP 産生系について Agilent Seahorse XF HS Mini Extracellular Flux Analyzer (Seahorse Bioscience), Agilent Seahorse XFp Glycolysis Stress Test kit と XFp Real-Time ATP rate assay kit を用いて調べた。

D-アロースは腹腔内投与 10 分後に血中および腫瘍組織で検出され、その後徐々に減少した。In vivo の実験から、D-アロースと放射線の併用はどちらか一方のみの治療よりも有効であることが明らかになった。in vitro および in vivo の実験で、D-アロース添加後に TXNIP mRNA の過剰発現が検出された。D-アロースは細胞増殖を阻害したが、これは解糖および細胞内 ATP レベルの低下と AMPK の長時間活性化に関連していた。p38-MAPK のリン酸化も D-アロース投与後早期に観察され、in vitro および in vivo の両実験において、それに続いて AMPK の活性化と TXNIP の発現上昇が観察された。

D-アロースの全身投与による抗腫瘍効果が確認できた。AMPK の活性化や ATP の阻害は 2DG でも確認されており、抗腫瘍効果のメカニズムとしては類似した作用があることが確認された。D-アロースの適切な投与量と投与時期、および他の代謝剤との併用について、さらなる研究が必要である。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和 6 年 8 月 28 日に行われた。

本研究は D-allose の腹腔内投与を利用した全身投与に関して、抗がん作用を有している点のみでなく、放射線との相乗効果がある点や投与後の血中や組織への移行、TXNIP 発現増加や、解糖系への影響を指摘したもので、結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は、がん治療の治療の選択肢を広げる可能性がある点で意義があり、学術的価値が高い。委員会の合議により、本論文は博士 (医学) の学位論文に十分値するものと判断した。

審査においては

- ① D-allose 全身投与と放射線治療のコンビネーション治療は実臨床ではどのような症例や投与方法を想定しているか？
- ② ウエスタンブロットで HSC3 細胞株を選んだ理由はなにか？
- ③ D-glucose はミトコンドリアによる ATP 産生に影響を及ぼすか？
- ④ D-allose 腹腔内投与後の腫瘍組織内の D-glucose 濃度がいったん下がるが、D-allose の濃度低下に伴い D-glucose がすぐに濃度上昇する機序はどう考えるか？
- ⑤ 2デオキシグルコースについて触れているが、今までに 2デオキシグルコースについての検討したことがあるか？
- ⑥ 腫瘍体積はどのように算出したのか？
- ⑦ 今回は舌癌の細胞株を使用しているが、頭頸部がんの中で舌癌は他のものと性質が大きく違うのか？
- ⑧ D-allose の抗腫瘍効果について、殺細胞効果なのか、そうではない抑制効果なのかどう考えているか？
- ⑨ 抗がん剤との併用効果については検討しているか？

などについて多数の質問が行われた。申請者はいずれにも明確に応答し、医学博士の学位授与に値する十分な見識と能力を有することが認められた。

掲載誌名	Anticancer Research	第 44 巻, 第 5 号
(公表予定) 掲載年月	2024年 5月	出版社(等)名 International Institute of Anticancer Research

(備考) 要旨は、1, 500 字以内にまとめてください。