

学位論文審査の結果の要旨

令和 2年 2月 18日

審査委員	主査	鈴木 康之		
	副主査	西山 成		
	副主査	辻 晃仁		
願出者	専攻	医学	部門	
	学籍番号	16D729	氏名	松井 崇矩
論文題目	Telmisartan Inhibits Cell Proliferation and Tumor Growth of Esophageal Squamous Cell Carcinoma by Inducing S-Phase Arrest In Vitro and In Vivo			
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。)	

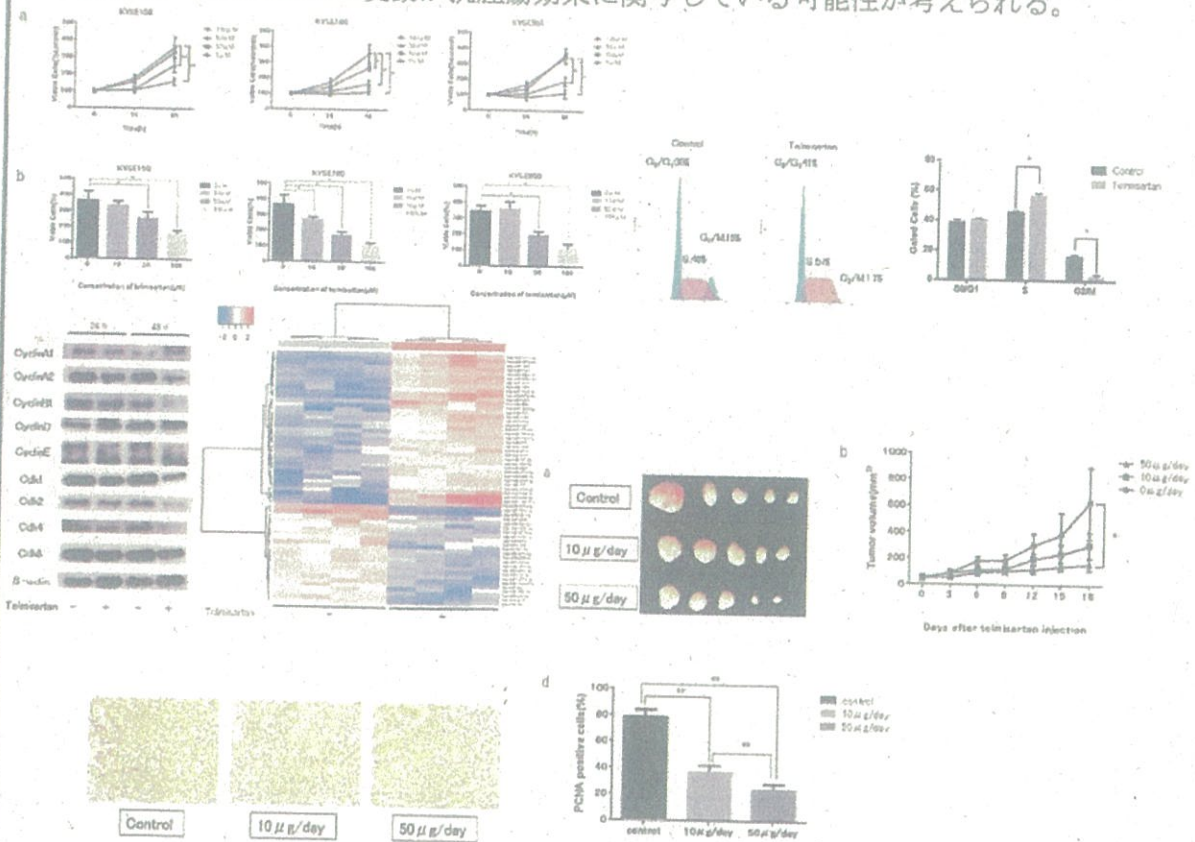
〔要旨〕

【背景】食道癌は世界で7番目に多い悪性腫瘍であり、その死亡率は全ての悪性腫瘍の中で6番目に高い。死亡率が高い原因として、食道癌の多くが切除不能なstageで診断されていることがあげられる。そのため放射線治療や化学療法が重要な疾患であると考えられる。またアンギオテンシンII type 1 受容体ブロッカーであり、降圧剤として広く使われているテルミサルタンは種々の癌で腫瘍抑制効果があることが報告されている。しかし食道癌の70%以上を占める食道扁平上皮癌に対するテルミサルタンの効果を検討した報告はない。そのため我々は食道扁平上皮癌に対するテルミサルタンの効果を *in vitro* と *in vivo* にて評価し、また腫瘍抑制に関する microRNA (miRNA) について検討を行った。

【方法】3種類の食道扁平上皮癌細胞株 (KYSE150, KYSE180, KYSE850) を用いて実験を行った。(1) テルミサルタン投与による細胞増殖の評価をMTT assayで検討した。(2) フローサイトメトリーと比色分析法を用いて細胞周期とアポトーシス誘導効果を検討し、さらに種々の細胞周期関連分子動態をWestern blot法で解析した。(3) アレイチップを用いてチロシンリン酸化受容体タンパク質や血管新生分子群を検出した。(4) 薬剤投与により誘導されるmiRNAsを2555分子が搭載されたチップを用いて網羅的に解析した。(5) KYSE180細胞をヌードマウスに皮下移植し、テルミサルタンが増殖抑制するか検討した。

【結果】MTT assayにおいて、テルミサルタンはこれら3種類全ての細胞株に対して濃度依存的に腫瘍増殖抑制を示した (Figure1)。また細胞周期を検討したフローサイトメトリーでは投与群においてS期の増加、G2/M期の低下を認め、S期での細胞周期の停止が示唆された (Figure2)。細胞周期関連タンパクをwestern blottingで調べたところ、Cyclin A2とcyclin-dependent kinase (CDK) 2の低下を認め、S期での細胞周期停止を支持する結果となった (Figure3)。一方アポトーシスの誘導は認めなかった (Figure4)。またテルミサルタン投与にて細胞増殖因子の受容体であるErbB3の活性化が抑制されており (Figure5)、血管新生分子群ではThrombospondin-1の発現が低下していた (Figure6)。miRNAについてのアレイチップを用いた検討ではテルミサルタン投与群と非投与群では異なるクラスターを形成しており、投与群では36分子がup-regulateされており、23分子がdown-regulateされていた (Figure7)。また *in vivo* の実験でもテルミサルタンによる腫瘍増殖抑制効果を認めた (Figure8)。

【結論】テルミサルタンは食道扁平上皮癌に対して細胞周期停止により抗腫瘍効果を持つことが示された。またmiRNAsの変動が抗腫瘍効果に関与している可能性が考えられる。



本学位論文はアンギオテンシン II type 1 受容体ブロッカー(ARB)で降圧剤として臨床使用されているテルミサルタンの食道癌に対する抗腫瘍効果の機序を、細胞株を用いて in vitro, in vivo で網羅的に解析したものである。令和2年2月18日に開催された学位論文審査会では、審査委員等から以下の質問があった。

- 細胞培養実験や動物実験で用いられた当該薬剤の濃度について
- 当該薬剤による miRNA の regulation が正常細胞に及ぼす影響について
- 既存の食道癌抗癌剤への上乗せ効果について
- ARB のうちテルミサルタンを選択した理由について
- 肺癌や他の癌腫に関する類似研究について
- PPAR- γ 転写に関する miRNA の結果と抗腫瘍効果への関与に関して
- In vivo 実験で経口投与でなく腹腔内投与とした理由
- In vivo 実験マウスの血中濃度や血圧低下による状態変化について
- 他の食道癌細胞株での検討の有無について

上記の質問に対し松井崇矩氏は適切に回答し、同氏が主動した研究であることが確認された。以上より、松井崇矩氏は医学の領域において研究者として自立し、独創的な研究活動を行うに必要な研究能力とその基礎となる学識を備えた研究者であると判断し、主査・副主査の3名全員一致で合格と判定した。

掲載誌名	International Journal of Molecular Sciences		
(公表予定)			
掲載年月	2019年6月	出版社(等)名	MDPI

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。