

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	岩本和樹
審査委員	主査 東山 繁樹 副査 佐山 浩二 副査 菊川 忠彦 副査 伊東 亮治 副査 濱田 雄行

論文名：リボヌクレオチドリダクターゼ M2 は口腔扁平上皮癌治療における有力な治療標的分子である

審査結果の要旨 (2,000 字以内)

口腔癌のみならず様々な癌腫において癌関連遺伝子の異常が癌細胞の増殖能や遊走能、浸潤能といった悪性形質を支持していることが知られている。また頭頸部扁平上皮癌において epidermal growth factor receptor (EGFR) の高発現が予後不良因子である報告がある。局所進行症例あるいは再発・転移症例に EGFR を治療標的とした Cetuximab (Cmab) を用いた化学放射線併用療法あるいは白金製剤との併用化学療法により局所制御率および全生存率の改善が報告されている。しかしながら、現在口腔扁平上皮癌患者に適応のある分子標的薬は Cmab のみであり、今後新たな治療標的分子の探索が急務となっている。岩本氏は、ヒト正常表皮角化細胞とヒト口腔扁平上皮癌細胞株 9 種を用いて遺伝子発現マイクロアレイ解析を行い、発現亢進する癌関連遺伝子として Ribonucleotide Reductase M2 (RRM2) を同定した。そこで、本研究では RRM2 が、口腔扁平上皮癌の治療標的分子として有用であるかどうか検討を行った。まず、ヒト口腔扁平上皮癌細胞 4 株とヒト正常口腔粘膜由来初代培養細胞、ヒト口腔扁平上皮癌腫瘍組織と隣接正常口腔粘膜組織における RRM2 タンパク質の発現を比較解析した。その結果、ヒト口腔扁平上皮癌細胞とヒト口腔扁平上皮癌腫瘍組織において RRM2 の高発現を認めた。続いて、RRM2 に対する特異的な合成 small interfering RNA (siRRM2) と RRM2 を標的分子とする代謝拮抗薬である Gemcitabine (GEM) を用いて RRM2 の機能阻害を行い、ヒト口腔扁平上皮癌細胞 4 株およびヒト口腔

扁平上皮癌由来初代培養細胞の細胞増殖における影響を評価した。その結果、いずれの細胞においても、siRRM2 導入群はコントロール群と比較して RRM2 タンパク質の著明な発現低下を認め、54.8% 以上の細胞増殖抑制効果を認めた。また、GEM で処理すると濃度依存的に細胞増殖抑制効果を認め、1000 nM では 83.0% 以上の増殖抑制を認めた。さらに、口腔扁平上皮癌患者由来腫瘍組織 25 検体を用いて GEM および口腔扁平上皮癌の治療に一般的に用いられている抗癌薬である Cisplatin (CDDP)、5-fluorouracil (5-FU)、Docetaxel (DOC) の抗腫瘍活性を Collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST) 法による抗癌剤感受性試験で評価した。抗癌剤感受性試験の結果、GEM は DOC と同程度かつ、CDDP と 5-FU より高い抗腫瘍活性を認めた。しかしながら、GEM 感受性と RRM2 mRNA の発現量の間に関連関係は認めず、口腔扁平上皮癌において GEM は RRM2 の発現量に関係なく高い感受性を示した。以上の結果から、RRM2 は口腔扁平上皮癌の増殖を支持しており、GEM に代表される RRM2 を標的とする分子標的治療が口腔癌の新規治療戦略となる可能性が示唆された。

発表後審査員より、

- ① 解析対照群として、正常口腔扁平上皮細胞を用いていないのはなぜか、
- ② GEMの正常細胞に対する抗増殖効果は癌細胞に比べてどうか、
- ③ RRM2遺伝子の発現レベルとGEMの効果に相関性が無いのはなぜか、
- ④ 頭頸部癌に対するGEMの臨床試験は現在どこまで進んでいるのか、
- ⑤ GEMの放射線治療に対する増感作用が口腔扁平上皮癌細胞にも期待できるのか、
- ⑥ GEMのRRM1、RRM2に対して阻害活性を持つが、口腔扁平上皮癌細胞においてはどちらの効果が優位なのか、
- ⑦ 膀胱癌や肺癌では、RRM2遺伝子の発現レベルとGEMの効果が相反するとの報告があるが、これについての意見は、
- ⑧ RRM2に対するsiRNAのデザインはどの配列を標的として行われたのか、
- ⑨ 患者由来組織のprimary cultureで線維芽細胞の増殖を抑えるためにはどのような方法をとったのか、
- ⑩ RRM2に対するsiRNAがウェスタンブロットで検出できる二本のバンドのうち、高分子量のバンドのみを抑制したのはなぜか、

などの活発な質疑がなされた。岩本氏はこれらの質問に対して明確に返答し、審査委員会は一致して本論文が学位授与に十分値すると判断した。

尚、岩本和樹氏の学位論文公開審査会は、平成 27 年 2 月 10 日 14 時より第 1 ゼミナール室で行われた。