

氏名(本籍) ^{おかもと}岡本 ^{しゅういちろう}秀一郎 (奈良県)

学位の種類 博士(医学)

学位授与番号 甲 第 645 号

学位授与日付 平成 29 年 3 月 17 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学位論文題目 Withaferin A suppresses the growth of myelodysplasia and leukemia cell lines by inhibiting cell cycle progression

審査委員 教授 紅林 淳一 教授 岸 文雄 教授 稲川 喜一

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群の治療成績は満足いくものではないため、新たな治療薬の開発が必要である。急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群由来の 5 つの細胞株を用い、indian winter cherry の成分であるステロイド系ラクトンの一つ withaferin A (WA) の増殖抑制効果を検討した。WA は比較的低濃度の処理で G2/M における細胞周期の停止を起し、また、部分的にアポトーシスを誘導し、細胞増殖を抑制した。WA 処理による遺伝子発現の変化をプロファイル解析し、オートファジーに関連する heme oxygenase-1 (HMOX1) 遺伝子の発現が増加することがわかった。HMOX1 蛋白の増加は、オートファジー関連蛋白 LC3A/B の増加を起し、オートファジーの増加をもたらした。WA とオートファジー阻害効果のある chloroquine の併用は、早期アポトーシスの増加と増殖抑制効果を相加的に増強した。ヒト骨髄由来の CD34 陽性細胞の短期培養実験では、WA の増殖抑制効果は僅かであった。これらの結果を総合すると、WA は急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群の新規治療薬として有用なことが示唆された。以上が申請論文の要旨である。

本研究の優れた点としては、1) 近年、がんの治療薬として注目を集めている natural product の一つ WA を用いた、2) 遺伝子発現プロファイル解析を行い、WA 処理によりオートファジーに関連する HMOX1 遺伝子が有意に増加することを発見した、3) WA はオートファジーを誘導し、抗腫瘍効果を弱めてしまうが、このオートファジー誘導効果を阻害することにより増殖抑制効果が増強することを示したことが挙げられる。一方、さらなる検討が必要な点としては、1) G2/M における細胞周期の停止を引き起こす細胞周期チェックポイント因子の検討がない、2) アポトーシス誘導の effector 因子の検討がない、3) 細胞回転の速さと WA の増殖抑制効果との関連が不明である、など

が挙げられる。本申請論文は、科学的・医学的に十分な質と独創性があり、学位論文に値するとすべての審査委員が判断した。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位申請論文の内容に関し、研究の目的、材料と方法、実験結果、結果の解釈と考察が落ち着いて発表された。審査委員長から、1) 本研究における発表者の貢献度が確認され、発表者が中心となっていたこと、2) 研究倫理に従い真実のみを論文化したことが確認された。続いて、審査委員より研究方法や研究結果の解釈に関し、確認や質問が行われた。発表者は、質問の内容を理解し、自信をもって落ち着いて返答を行った。具体的には、WA 処理による遺伝子発現プロファイル解析における gene set enrichment analysis (GSEA) について質問があり、\$USF_Q6_01 という遺伝子セットの発現増加が抽出されたが、その意義に関しては検討できておらず、単一の遺伝子である HMOX1 遺伝子発現の増加に注目し、オートファジー関連因子として、その後の研究に利用したことが説明された。また、HMOX1 遺伝子産物は、本来、ヘム代謝に関わる因子であり、細胞内の reactive oxygen species (ROS) の産生を増加させ、それがアポトーシス誘導と関連している可能性についてコメントがあり、今後、検討してみたいとの返答があった。申請論文中に記載のあった臨床検体（急性骨髄性白血病患者から得られた細胞）を用いた実験に関し質問があり、僅か 1 症例のみの検討であるが、細胞株のような均質な細胞集団でないので WA の効果の評価が難しいことが説明された。さらに、*in vivo* モデルでの可能性、細胞骨格や epithelial-mesenchymal transition (EMT)、癌幹細胞に対する WA の効果などに関し質問が行われたが、適切な返答が行われた。また、WA の臨床応用の将来展望に関しての質問があり、固形腫瘍に比べ急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群の腫瘍細胞で WA に対する感受性が高いことが示されており、臨床応用の可能性はあると返答された。

以上の発表及び質疑応答の様子から、本申請者は専門領域に関する十分な知識を有しており、さらに、学問に関する真摯な態度もうかがえ、今後の十分な研究遂行能力があると判断された。