

氏名（本籍）	緒方 ^{おがた} 良平 ^{りょうへい} （佐賀県）		
学位の種類	博士（医学）		
学位授与番号	甲第 702 号		
学位授与日付	令和 4 年 3 月 10 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	Resistance to cyclin-dependent kinase (CDK) 4/6 inhibitors confers cross-resistance to other CDK inhibitors but not to chemotherapeutic agents in breast cancer cells		
審査委員	教授 勝山 博信	教授 三原 雅史	教授 本郷 淳司

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

Cyclin-dependent kinase (CDK) 4/6 阻害薬であるパルボシクリブ (PAL)やアベマシクリブ (ABE)と内分泌療法の併用は、エストロゲン受容体 (ER)陽性およびヒト上皮成長因子受容体 (HER) 2 陰性の転移・再発乳癌患者の治療に汎用されている。しかし、これらの併用療法に対する耐性が必然的に生じる。そこで、PAL と ABE に対する耐性乳癌細胞株を作製し、生物学的特徴と各種抗腫瘍薬に対する感受性を検討した。まず、ヒト乳癌細胞株として、ER 陽性 HER2 陰性でエストロゲン高感受性の MCF-7 細胞株と低感受性の KPL-1 細胞株を用いた。これらの細胞に PAL または ABE を添加した培地で 6 か月培養して耐性細胞株を作製した。この耐性細胞株の特徴を調べるために、細胞増殖能、RB 及びリン酸化 RB 量、細胞周期、細胞老化に与える影響を検討した。さらに、耐性細胞株の他の CDK 4/6 阻害薬や各種抗癌化学療法薬の細胞増殖に及ぼす影響を検討した。又、耐性獲得のメカニズムを調べるため、細胞周期関連因子と ER- α の発現を RT-PCR 法で検討した。両耐性細胞株は PAL または ABE による細胞増殖抑制効果、G1-S 移行阻害作用、細胞老化促進作用が減弱していた。両細胞株において RB の発現レベルは有意に低下し、PAL または ABE による Rb リン酸化阻害効果が減弱していた。両耐性細胞株は他の CDK 4/6 阻害薬に対して交叉耐性を示したが、各種抗癌化学療法薬に対しては親細胞とほぼ同等の感受性を示した。CDK6 の mRNA 発現量は耐性 MCF-7 細胞株で有意に増加し、Rb の発現量は耐性 KPL-1 細胞下部で有意に減少していた。又、両耐性細胞株は親株に比べ、エストロゲンに対する増殖反応性が明らかに低下していたが、ER- α の発現量は変化していなかった。

以上より、CDK4/6 阻害薬に対する耐性獲得が他の CDK4/6 阻害薬に対する交叉耐性を誘導され、このメカニズムとして CDK6 の発現増加や Rb の発現低下が関連していることを検証したところに意義がある。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位審査発表会においては、冒頭に cyclin 4 と cyclin 6 がエストロゲンレセプターと複合体を形成し、Rb のリン酸化を抑制することで細胞周期の G1-S 移行阻害と老化促進減弱作用のあること、CDK 4/6 阻害薬は cyclin を阻害することにより抗癌作用を発揮することを示した。そこで、ER 陽性 HER2 陰性でエストロゲンに高感受性と低感受性の 2 種類の乳癌細胞株を 2 種類の CDK 4/6 阻害薬とともに長期培養して耐性株を作製し、乳癌細胞の CDK4/6 阻害薬に対する耐性獲得機序を明らかにした。乳癌細胞の耐性獲得機序の解明は所属教室が長年に亘って継続して取り組んでいる研究テーマであり、関連領域における十分な学識を有していることが示された。本研究では PAL 耐性株と ABE 耐性株に交叉耐性があること、この耐性獲得に Rb の発現低下とリン酸化 Rb の阻害効果の減弱が関与することを明らかにしたことが新規の知見と思われる。審査委員からの他の耐性獲得の可能性についての質問に対して、PI3K-AKT-mTOR などの他の経路を介した経路の可能性があること等の説明があった。又、長期培養による影響については親細胞と変化がないと説明があったが、審査委員からはすでに耐性を獲得した細胞を用いて検討してはいかかとの提案があり、今後の検討課題とされた。一方、培養期間に長期必要であることや結果を出す上での苦労についても披露された。本研究では耐性細胞はエストロゲンに対する感受性は低下したが、エストロゲンレセプターの mRNA レベルは差が無く、この機序を今後明らかにしていくことが課題としてあげられた。しかしながら、統計手法に関しては若干の問題点もあり、再勉強の必要性を認めた。以上より、研究領域に関する十分な能力と今後の研究を遂行する十分な能力を有していること、さらに学問に対する真摯な態度も持ち合わせていることが確認された。従って、審査員の合議の結果、本申請者は専攻科目並びに関連分野の学識と研究遂行能力を有すると判断し合格と判定した。