

## 論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )	氏名	迫川 賢士
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
<p>Involvement of homologous recombination in the synergism between cisplatin and poly(ADP-ribose) polymerase inhibition  (シスプラチンとポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ阻害の併用効果には相同組換え修復機構が関与する)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	神谷 研二	
審査委員	教 授	田中 信治	
審査委員	准教授	大上 直秀	
〔論文審査の要旨〕			
<p>食道癌は最も予後の悪い固形腫瘍のひとつであるが、化学療法領域では 5-fluorouracil (5-FU) と cisplatin の併用療法 (FP 療法) を凌駕するレジメンはいまだ開発されていない。最近、乳癌などの分子標的薬として poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) 阻害剤の可能性に注目が集まり、単剤での臨床試験において有効性が示されている。PARP は生体高分子の poly(ADP-ribose) (PAR) を標的蛋白に結合させ、この反応を介して DNA 損傷の検出および修復、クロマチン修飾、転写制御、エネルギー代謝、細胞死誘導など、多くの分子機能や細胞機能において重要な役割を果たしている。PARP は塩基除去修復によって DNA 一本鎖切断を修復するが、PARP を阻害すると一本鎖切断は修復されずにその損傷は二本鎖切断 (DSBs) へと変化し、相同組換え (HR) によって修復される。しかし、一部の乳癌細胞などで BRCA 変異等により HR 機能が欠損した細胞において PARP 機能が阻害されると、高度のゲノム不安定性が生じ死に至る (synthetic lethality)。さらに近年、HR 機能を有する細胞においても、白金製剤などの抗癌剤の効果増強剤として基礎および臨床研究が進んでいる。そこで、食道癌細胞株を用いて、cisplatin に及ぼす PARP 阻害の役割を明らかにすることで、従来から行われてきた FP 療法との比較を行い、食道癌における新たな化学療法の可能性およびその併用効果のメカニズムに関して検討を行った。</p>			

食道癌細胞株は TE11、TE14、TE15 の 3 種類を用いた。PARP 阻害剤は 3-aminobenzamide (3-AB) を使用し、かつ siRNA を用いて PARP1 の発現抑制を行うことで PARP 阻害の効果を多角的に検討した。すべての細胞株において 3-AB 単剤では感受性に影響を及ぼさなかった。また、いずれの細胞株も 3-AB 単剤では、DSBs の指標となる  $\gamma$ H2AX のフォーカス陽性細胞数の増加は軽度に留まった。次に、cisplatin および 5-FU それぞれ単剤に加え、PARP 阻害処理を施し検討を行ったところ、いずれの細胞株も cisplatin に対する感受性は著明に増加し、cisplatin/5-FU と cisplatin/3-AB はほぼ同等の高い感受性と  $\gamma$ H2AX フォーカス陽性細胞数の著明な増加を示した。さらに、cisplatin/5-FU/3-AB の 3 剤併用では、いずれの細胞株も感受性・ $\gamma$ H2AX のフォーカス形成ともに cisplatin/5-FU と cisplatin/3-AB の 2 剤併用とほぼ同等であった。

続いて、cisplatin/3-AB によって示された相乗効果におけるメカニズムを追究するために、PARP 阻害剤の感受性に関わる重要な因子である HR の活性について、その重要な修復蛋白の一つである RAD51 のフォーカス形成を指標として検討した。いずれの細胞株も 3-AB 単剤で RAD51 フォーカス陽性細胞数の軽度増加を認めたが、その感受性に影響を及ぼさなかったことから、PARP 阻害で誘導された DSBs は HR の機能により正確に修復された可能性が考えられた。次に、cisplatin、5FU それぞれ単剤、および cisplatin/5-FU の併用療法における PARP 阻害の HR に及ぼす影響について RAD51 フォーカス形成を指標として検討してみたところ、cisplatin 単剤と比較して、cisplatin/3-AB および cisplatin/5-FU では RAD51 フォーカス形成の著明な増加を認めた。一方、cisplatin/5-FU に PARP 阻害を付加しても、RAD51 のフォーカス形成への影響はいずれの細胞株でも認められなかった。さらに、RAD51 発現抑制細胞を用いた検討から、cisplatin/5-FU と cisplatin/3-AB の感受性を増強することが明らかになり、PARP 阻害と 5-FU は、cisplatin による DNA 損傷を修飾して、より RAD51 が必要な損傷に変化させることで感受性を上げる可能性が考えられた。

以上より、cisplatin と PARP 阻害や 5-FU との併用効果増強には、HR 機構が深く関与していることが明らかになった。さらに、PARP 阻害剤による併用療法は、これまでの FP 療法と同等の効果が期待でき、今後新たな食道癌治療戦略の一つになり得るものと考えられた。

以上の結果から、本論文は食道癌細胞株において相同組換え修復機構が、シスプラチンと PARP 阻害の併用効果増強に関与しているという新たな知見の発見という点で非常に意義が高いと考えられる。よって審査委員会委員全員は、本論文が迫川賢士に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものとした。