

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	高橋 一平
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
A chemical modulator of p53 transactivation that acts as a radioprotective agonist (p53 標的遺伝子の発現制御剤による放射線防護)			
論文審査担当者			
主査	教授	栗井 和夫	印
審査委員	教授	保田 浩志	
審査委員	講師	宮本 達雄	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>近年、技術革新による治療計画装置や放射線治療装置の高精度化、粒子線治療の開発など、放射線治療の物理的進歩により、正常組織への照射線量を低減しつつ、腫瘍へ集中して高線量を照射することが可能となった。しかし、腫瘍がリスク臓器に近接もしくは直接浸潤している症例では、正常組織の耐容線量に限界があるため、根治線量の投与は依然困難であり、副作用を軽減させる正常組織防護剤の開発など、生物学的アプローチの進歩が望まれる。</p> <p>正常組織とがん組織を区別する最も大きな特徴として、半数近くのがん細胞では、がん抑制因子である p53 に変異、あるいはウイルス由来因子による発現抑制や不活性化が見られ、p53 機能が抑制されていることが挙げられる。放射線障害で生じる細胞応答には p53 が深く関与しており、正常細胞のみに選択的な放射線防護効果を得るための創薬標的分子として p53 は非常に重要である。p53 制御剤は、正常な p53 機能を示す正常組織の放射線細胞死(アポトーシス)を選択的に防護し、p53 機能を喪失しているがん細胞は防護しないため、放射線被ばく事故での救命への応用だけでなく、正常組織だけを選択的に防護する放射線防護剤としての応用が期待されている。</p> <p>申請者が実施した先行研究において、8-キノリノール誘導体を含む亜鉛キレート化剤が p53 依存性アポトーシス経路を抑制することで、放射線防護効果を示す p53 阻害剤の候補となることを見出し、p53 分子内の亜鉛結合部位を標的とする化合物の合成、探索を進め、p53 活性を制御するいくつかの新規放射線防護剤候補化合物を見出した。本研究では、これまでに活性評価された候補化合物の一つ、5-クロロ-8-キノリノール (5CHQ) について作用機序の解析および防護活性評価を行った。</p> <p>その結果、5CHQ は、細胞周期を停止させることで放射線障害を受けた細胞の修復を促し、放射線細胞死に拮抗する p53 標的遺伝子 <i>CDKN1A</i> (遺伝子産物 p21) の発現を上方制御し、放射線細胞死を促進する p53 標的遺伝子 <i>BBC3</i> (遺伝子産物 PUMA) の発現を下方制御する</p>			

p53 標的遺伝子発現制御作用を示し、放射線高感受性の p53 依存性細胞死を示すヒト T 細胞性白血病細胞株 MOLT-4 の放射線細胞死を抑制した。p21 誘導を亢進させるその薬効は、p53 の抗細胞死活性を高めるシード化合物として最適と考え、マウス照射実験で放射線防護効果の評価を行った。骨髄死相当線量 7.5 Gy の ICR マウス全身照射 (total-body irradiation; TBI) 試験では、30 日後のマウス生存率は、5CHQ 投与群は 50%、非投与群 0%であった ($p < 0.05$)。さらに、マウス前脚部の骨髄を鉛で遮蔽防護することによって骨髄死を回避する亜全身照射法 (sub-total-body irradiation; SBI) によって、腸管障害に対する放射線防護効果を検討したところ、30 日後のマウス生存率は、18Gy-SBI において、5CHQ 投与群は 90%、非投与群 40%、24Gy-SBI において、5CHQ 投与群 40%、非投与群 0%であった ($p < 0.05$)。放射線防護剤の防護活性を示す線量減少率 DRF (dose reduction factor) は、骨髄死相当線量の全身照射試験で 1.2、腸死相当線量の腹部照射試験で 1.3 と、新規の放射線防護剤シードとして良好な値を示した。また、5CHQ による放射線防護作用の p53 特異性に関しては、p53 の遺伝子発現を抑制したノックダウン細胞や、ノックアウトマウスを用い、p53 が正常に機能している細胞やマウスでのみ有効な p53 依存的防護効果を示すことを確認した。最後に、5CHQ の防護活性評価としてマウス腸上皮の病理組織学的解析を行い、21 Gy-SBI 3.5 日後のマウス陰窩において、5CHQ 投与マウスでは非投与マウスと比較して増殖が盛んな細胞が残存していることを確認した。また、21 Gy-SBI マウスの空腸上皮の qPCR 解析では、*Cdkn1a* mRNA 発現の亢進、および *Bbc3* mRNA 発現の低下を認め、5CHQ は、ヒト培養細胞における作用と同様の作用をマウス腸上皮に対しても示すことが明らかとなった。

以上の結果から、本論文は、5CHQ が p53 依存的に放射線細胞死を抑制し、p53 標的遺伝子の発現制御においては放射線防護的な調節作用を示すことを明らかにした。これら最新の知見は、生体に存在する p53 の潜在的な放射線防護活性を引き出すことで正常組織の急性障害を制御する新たな放射線防護剤開発戦略となることが期待される内容であり、高く評価できる。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	高橋 一平
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
A chemical modulator of p53 transactivation that acts as a radioprotective agonist (p53 標的遺伝子の発現制御剤による放射線防護)			
最終試験担当者			
主 査	教授	栗井 和夫	印
審査委員	教授	保田 浩志	
審査委員	講師	宮本 達雄	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記の審査委員会委員が出席のうえ、平成30年2月1日の第73回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年2月6日の本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 5CHQ が p21 を誘導し、PUMA を抑制する分子メカニズム 2. 効果の年齢依存性 3. 5CHQ が晩発障害を誘発する可能性 4. 5CHQ の照射後投与の効果（放射線事故への適応の可能性） 5. 5CHQ の毒性 6. 臨床応用への道筋 <p>これらに対して極めて適切な回答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			