

# 論文審査の要旨及び担当者

| 報告番号  | 甲 ㊦ 第 | 号     | 氏名    | 筒井麻衣        |
|---|-------|-------|-------|-------------|
| 論文審査担当者   | 主査    | 外科学   | 北川雄光  |             |
|   | 内科学   | 金井隆典  | 先端医科学 | 佐谷秀行        |
|   | 臨床薬剤学 | 谷川原祐介 |       |             |
| 学力確認担当者   | 河上裕   |       | 審査委員長 | 金井隆典        |
|   |       |       | 試問日   | 平成27年12月18日 |
| (論文審査の要旨)   |       |       |       |             |
| 論文題名 : Comprehensive screening of genes resistant to an anticancer drug in esophageal squamous cell carcinoma<br>(食道扁平上皮癌における薬物療法耐性遺伝子の網羅的解析)   |       |       |       |             |
| <p>本研究では、トランスポゾンを用いた薬剤耐性遺伝子の新しい網羅的解析により、食道扁平上皮癌のシスプラチン (CDDP) 耐性遺伝子の同定を行った。食道扁平上皮細胞 (TE細胞)8株より、37種類の耐性遺伝子候補が挙げられた。8種類の遺伝子は高発現しており、29種類は発現が抑制されていた。この中には、骨髄増殖性腫瘍との関連がある <i>JAK2</i>、細胞増殖、細胞分化、発病などの様々な生物過程に関わると報告されている <i>TRIM16L</i>が挙げられた。<i>JAK2</i>が耐性遺伝子候補として分離された細胞株において、リアルタイムPCRを行ったところ、野生株に比して有意に<i>JAK2</i>の発現が抑制されており (<math>p=0.002697</math>)、実験系の再現性が証明された。</p> <p>審査では本研究の新規性、独自性、先行研究と関連を問われた。先行研究では、子宮頸癌、乳癌、神経芽細胞腫、HeLa細胞より、パクリタキセル耐性遺伝子<i>ABCB1</i>を同定しているが、当研究では、先行研究のプロトコルを参考に、新たに食道扁平上皮癌細胞を用いて、トランスポゾンの導入確認のためのピューロマイシン濃度を独自に調査した点が独自であると回答された。次にCDDPの濃度決定設定について問われた。当教室でのTE細胞に対するIC50値が1.41<math>\mu\text{g/ml}</math>とのデータより、0~2<math>\mu\text{g/ml}</math>の濃度で実験を行い、最終的にTE4株には0.5<math>\mu\text{g/ml}</math>、TE15株には0.25<math>\mu\text{g/ml}</math>という濃度を得たと回答された。CDDP耐性株の増殖速度と、野生株との比較について質問されたが、これについては調べていなかった。さらに<i>JAK2</i>に着目した根拠について質問されたが、実験を開始して初期に獲得した耐性株から同定され、骨髄増殖性疾患との関連について複数の報告があることから、有力な耐性遺伝子候補と考え、着目したと回答された。複数の株で<i>JAK2</i>が耐性株候補として検出されなかった理由について問われたが、本研究ではトランスポゾンの導入効率が0.13%と低いことが原因である可能性があるという回答された。本システムの網羅的解析としての妥当性についても問われたが、本研究で使用したPiggyBacトランスポゾンではトランスポゾンの挿入はランダムであり、網羅的解析としては妥当と考えたと回答された。</p> <p>論文をより説得力のあるものとするために、高発現された遺伝子のノックアウトによりCDDP耐性を証明すべきこと、トランスポゾンの導入確認にピューロマイシンではなく、蛍光標識を用いる方が多くの耐性株を得られる可能性があること、<i>JAK2</i>遺伝子のノックインの実験を追加することをアドバイスされた。</p> <p>以上、本研究には検討すべき課題が残されているものの、食道扁平上皮癌細胞におけるトランスポゾンを用いた薬剤耐性遺伝子の網羅的解析が再現性をもって実現可能であり、さらに発展した研究へとつながる足がかりとしても、有用な研究であると評価された。</p> |       |       |       |             |