

学位授与番号：甲 1 0 4 6 号

氏 名：鈴木 雄太

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 29 年 7 月 26 日

学位論文名：

Temozolomide does not influence the transcription or activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 in glioma cell lines.

学位論文名（翻訳）：

（神経膠腫細胞株におけるテモゾロミドのマトリックスメタロプロテナーゼ-2 と-9 の転写発現及び酵素活性への影響）

学位審査委員長：教授 矢野真吾

学位審査委員：教授 岡部正隆 教授 矢永勝彦

論 文 要 旨

論文提出者名	鈴木 雄太	指導教授名 村山 雄一
<p data-bbox="197 434 328 465">主 論 文</p> <p data-bbox="181 483 1434 564">Temozolomide does not influence the transcription or activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 in glioma cell lines.</p> <p data-bbox="181 575 1434 656">(神経膠腫細胞株におけるテモゾロミドのマトリックスメタロプロテナーゼ-2 と-9 の転写発現及び酵素活性への影響)</p> <p data-bbox="181 674 1414 705">Suzuki Yuta, Fujioka Kouki, Ikeda Keiichi, Murayama Yuichi, Manome Yoshinobu.</p> <p data-bbox="181 723 1345 754">Journal of Clinical Neuroscience. 2017; Apr 10; doi: 10.1016/j.jocn.2017.03.048</p> <p data-bbox="197 826 277 857">要 旨</p> <p data-bbox="181 887 1434 1809">神経膠腫は浸潤性が強く、外科的切除時に断端部に浸潤している。術後の放射線に加え、脳血液関門を通過し非増殖期の細胞にも作用する TMZ が臨床で最も広く使われている。神経膠腫の浸潤能には MMP などのタンパク分解酵素が関与し、中でも基底膜の構成要素であるIV型コラーゲンを分解するMMP-2やMMP-9が必須である。MMP同士は複雑に制御されているが、特にMMP-9は転写時に最も活性が制御され、MMP-9の転写量が組織悪性度と相関する。TMZの抗腫瘍効果は、DNA傷害を誘導し、関連する転写因子が、MMP-9のプロモーター領域に結合し、転写が活性化する可能性がある。TMZのDNA傷害効果とMMP-2や-9の転写発現や酵素活性の関係は明らかにされていない。本研究ではTMZの細胞毒性試験で測定した濃度(25%または50%発育阻止濃度)の24・48時間処理されたA172のMMP-2と-9のmRNA量を半定量逆転写PCRで、また同様処理下のA172と別の腫瘍細胞株U373MGのMMP-2と-9の酵素活性をゼラチンザイモグラフィで評価した。IC25とIC50のTMZで細胞障害の程度を調べ、MMP-2,-9に対する効果は、腫瘍細胞株A172の転写量に影響を与えず、A172とU373MGのMMP-2,-9の酵素活性にも影響を与えなかった。TMZによる神経膠腫の治療は、単独ではMMPを制御することができないが、MMP-2,-9の選択的な抑制剤を併用することにより、神経膠腫に対する傷害性に加えて、浸潤性を抑制できる可能性がある。また、この方法は他の薬剤のMMP-9による浸潤に対する影響を評価することに応用ができる。</p>		

学位論文審査の結果の要旨

鈴木雄太氏の学位申請論文は、主論文 1 編、参考論文 1 編よりなり、主論文のタイトルは、「Temozolomide does not influence the transcription or activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 in glioma cell lines (神経膠腫細胞株におけるテモゾロミドのマトリックスメタロプロテナーゼ-2 と-9 の転写発現及び酵素活性への影響)」と題するもので、2017 年に *Journal of Clinical Neuroscience* 誌に発表された。この研究は脳神経外科学講座の村山雄一教授の指導によるものである。以下に論文内容の要旨と論文審査委員会の結果を報告する。

神経膠腫は正常細胞への浸潤能が高いため、腫瘍細胞の増殖と浸潤の両者を制御する必要がある。本研究は神経膠腫の第一選択薬であるテモゾロミド (TMZ) の細胞浸潤に対する抑制効果について検討したものである。

腫瘍細胞の浸潤には多くの因子が関与しているが、マトリックスメタロプロテナーゼ (MMP-2, MMP-9) が重要な役割を果たしている。そこでヒト神経膠腫細胞に TMZ を加え、MMP-2, MMP-9 に対する影響について解析した。その結果、TMZ は濃度依存性に抗腫瘍効果を示したが、MMP-2, MMP-9 には影響を与えなかった。

今回の研究により TMZ は、神経膠腫細胞に対して抗腫瘍効果を有するが、正常細胞への浸潤を抑制することはできないと考えられた。しかし TMZ に MMP-2, -9 の選択的阻害薬を併用することにより、腫瘍細胞の増殖と浸潤の両方を制御できる可能性が示唆され、今後さらなる研究の必要性を提言している。

本申請に対し平成 29 年 6 月 26 日、矢永勝彦教授、岡部正隆教授ご臨席のもと公開学位論文審査会を開催した。席上、1) テモゾロミドと MMP 阻害薬に関連した基礎研究の報告はあるのか、2) この研究は 2 種類のヒト神経膠腫細胞株で解析されているがこれらの細胞株を選択した理由はなにか、3) MMP の酵素活性をゼラチンザイモグラフィで評価しているが、種々の酵素活性が関与している可能性もあるなか、その特異性をどのように担保したのか、4) テモゾロミドを投与すると細胞株の細胞周期の分布が変化し S 期の細胞が増加しているが、その機序は何か、5) 今回 *in vitro* で設定した薬剤の濃度は、臨床で使用可能な濃度か、6) テモゾロミドが MMP-9 の転写量を賦活化し、神経膠腫の浸潤に影響を与えると推測しているが、その根拠は何か、など多数の質問、指摘があった。鈴木氏はそれぞれに対して的確に回答した。本研究は神経膠腫の高い浸潤能に対して、タンパク分解酵素である MMP に着目し、第一選択薬として広く使用されているテモゾロミドに MMP 阻害薬を併用することにより、腫瘍細胞の増殖と浸潤を制御できる可能性について考察した点に、従来の報告と一線を画す新規性があった。この点を評価し、慎重審議の結果学位論文として十分価値のあるものと認めた次第である。