

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 541 号		学位申請者	中島 隆之
審査委員	主査	河野 嘉文	学位	博士 (医学)・歯学・学術)
	副査	中川 昌之	副査	古川 龍彦
	副査	宮田 篤郎	副査	山口 宗一

主査および副査の5名は、令和2年2月3日、学位申請者 中島 隆之 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) Tranilast の他にどんな薬剤を探索したのか。

(回答)最初は降圧薬の Losartan で、CAF を減弱して drug delivery を増やすという報告があり試したが、結果はでなかった。

質問2) WST-1 は細胞活性をみたが、実際に DNA 合成などはみたか。

(回答)マイクロアレイ解析など行って、遺伝子レベルの解析行ったが、効果が cytostatic なこともあり、解析はできかった。

質問3) 遊走能の評価は行ったか。

(回答)Invasion assay などを行い、効果はありそうであったが、有意差までは出すことができなかった。

質問4) 使用した細胞の起源はどう違うか。

(回答)HOS 細胞と 143B 細胞の起源は一緒で、動物実験で使用できるように改良したものが 143B 細胞で、U2OS 細胞の起源は別で、p53 野生型の細胞として使用した。MG63 は男性起源の細胞のため使用した。

質問5) 転移巣起源の細胞は使用したか。

(回答)使用していない。

質問6) コントロールの細胞に線維芽細胞を使用しているが、骨肉腫の細胞のオリジンは線維芽細胞か。

(回答)異なる。正常骨芽細胞でも実験を行い、同様な傾向であったが、取り扱いが難しく、取り扱いのし易い WI-38 を使用した。

質問7) 臨床応用は難しい理由はなにか。

(回答)静的な効果のため、単剤では臨床応用が難しいため、今回併用で応用できたらいいと思い研究した。

質問8) MG63 細胞だけが p21 の結果が違うのはなぜか。

(回答)p53 の機能が低いためだと考えたが、p53 機能の介さない経路で効果を出現したためだと予想した。

## 最終試験の結果の要旨

質問 9) Tranilast は癌の転移を抑制するか。

(回答)浸潤能を抑制したデータは文献上あるが、転移を抑制した文献はない。

質問 10) 今後の臨床応用にむけてどうか。

(回答)今後臨床応用にむけて臨床試験を検討している。

質問 11) その他の抗癌剤との併用効果はどうか。

(回答)Ifosfamide、Methotrexate と併用して効果の増強はあるが、手技上の問題もあり、抗癌剤自体の効果の再現性が乏しかったためデータは使用しなかった。

質問 12) Combination Index 算出のための併用効果実験で薬剤の濃度の比はどれくらいか。

(回答)Cisplatin と Tranilast が 1 対 100 の比で実験をした。

質問 13) p-H2Ax や p21 が無刺激の状態で高くなっているのはなぜか。

(回答)DNA 修飾機構の異常やゲノムの不安定などの理由で、DNA 障害が常に高まっている可能性がある。

質問 14) 143B 細胞において Tranilast で p-CDK1 が上昇し、Cisplatin では上昇していないがなぜか。

(回答)HOS 細胞と 143B 細胞の起源は同じであるため、細胞の培養状態などの可能性があるが、検討はしていない。

質問 15) Cisplatin の効果を高めているのか、ATR のところを阻害しているのかどうか。

(回答)間接的な効果と直接的な効果で Cisplatin の効果を増強していると考えているが、詳細な検討はしていない。

質問 16) 他の整形外科領域の腫瘍に対してリザベンは使用可能と考えるか。

(回答)予備実験で線維肉腫に効果があったので使用できると考えている。

質問 17) 関節リウマチなどでの使用はどうか

(回答)いままでは検討していないが、今後検討する。

質問 18) p53 に変異がある癌細胞でも p21 の上昇を認めるが、その機序に関与している可能性のある TGF- $\beta$  について測定をされているか。

(回答)測定していない、今後の実験で検討する。

質問 19) p-CDK1 (Y15) と p-CDK1 (T161) の作用の違いはなにか。

(回答)p-CDK1(T161)は活性化型で、p-CDK1(Y15)が不活性化型で p-CDK(Y15)が蓄積すると G2/M arrest を起こすとの報告がある。

質問 20) Tranilast と腫瘍免疫との関連を示唆する報告はあるか。

(回答)知りうる限りはない。

質問 21) Tranilast は何をどのように準備したのか。

(回答)試薬として販売されている。Tokyo Chemical Industry から購入した原末を DMSO で溶解し、DMSO の影響がない濃度で実験した。

質問 22) HOS 細胞で効果が高いのはなぜか。

(回答)検討していないが、細胞自体の遺伝子変異、培養の状態などの問題であると考えた。

質問 23) 動物の組織での評価は行ったか。

(回答)評価していない。今後検討していく。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。