

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 261 号	学位申請者	多田 浩一
審査委員	主査	武田 泰生	学位 博士 (医学)
	副査	古川 龍彦	副査 松口 徹也
	副査	米澤 傑	副査 郡山 千早

主査および副査の5名は、平成25年10月1日、学位申請者 多田 浩一 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) 臨床研究で MK615 (ミサトール) が著効した例を示したが、そういう例は何例ほど経験したか。

(回答) 現在のところ提示した1例のみである。

質問2) A375 細胞株で特に強い抗腫瘍効果を認めたようだが、使用細胞株により効果に差があるのか。

(回答) 細胞による差はあったが、どのような原因で差が出るかは判明出来なかった。

質問3) Id には Id-1~4 のサブタイプがあるが、Id-1 以外のサブタイプの発現に変動はなかったか。

(回答) MK615 刺激による DNA マイクロアレイで、Id-3 の減少も認めたが、特に腫瘍の増殖、進展に関わりの深いと報告の多い Id-1 にターゲットを絞って研究を行った。

質問4) 臨床の例では、手術を施行し化学療法を継続したままミサトールの投与を行っていたが、化学療法に追加で投与しても問題がないのか。また化学療法はミサトールを投与するまでは効果がなかったのか。著効した後の患者の経過はどうだったか。

(回答) 特に副作用もなく安全に使用でき、併用でも問題はない。著効を示した症例では化学療法のみでは効果がなく多数の皮膚結節が出現したが、ミサトールを併用することで劇的な効果を示したと考える。その後1年程は再発、転移なく経過していたが、2年ほどで多臓器転移が出現し永眠された。

質問5) ERK と Id-1 間のシグナル伝達は判明しているか。

(回答) ERK と Id-1 の間のシグナル伝達の機構は判明出来なかった。過去の論文でも報告がない。

質問6) ERK の阻害剤を使用し増殖抑制効果を認めているが、MK615 との併用実験を行なったか。また Id-1 のターゲットとなる分子は Bcl-2 以外にはどのようなものがあるか。

(回答) 併用の実験は試みていない。Id-1 のターゲットとなる分子として報告があるのは MMP2, MMP-9, VEGF, NFκ-β, p53 など多数あり広範囲の分子に作用している。

質問7) MK615 は3種の細胞株で細胞増殖抑制とアポトーシスの誘導を示しているが、ERK のリン酸化を抑制する機序はどうか。

(回答) 判明には至らなかったが、ERK の上流の Raf, Ras を抑制するのではと考えている。

質問8) 抗酸化物質は抗腫瘍効果を認めると記載してあるが、一般的にどういった機序で効果を持つと言われているのか。

(回答) Nrf2 を介して HO-1, グルタチオン等に作用し、アポトーシスを誘導するとの報告がある。

質問9) 臨床の例で化学療法と併用されているが化学療法の薬剤は何を使用したのか。また実際には MK615 だけの効果だけでなく併用により効果が出たという可能性もあるのか。使用したミサトールの投与量はどの程度か。

(回答) 化学療法はインターフェロン βを使用した。もちろん MK615 のみでの効果とは考えづらく併用により相乗効果がでたのではと考えている。ミサトールは経口投与で、用量は通常量で投与したが、用量に依存して効果が増強すると考えている。

最終試験の結果の要旨

質問 1 0) 実験では、10~20 μ l/ml の MK615 で効果を認めているが、実際臨床で投与した用量は血中、体液中の循環濃度からみて in vitro での実験濃度と同程度の濃度と考えているのか。

(回答) 臨床での投与量は他の成分なども含まれており具体的な成分濃度は分からないが、実験での濃度まで達していないのではないかと考えている。

質問 1 1) マイクロアレイで Id-1 のターゲットである分子も変動があったか。

(回答) ターゲット分子も変動があった。

質問 1 2) MTT 法のみでは増殖の抑制なのかアポトーシスの誘導なのか判明できないが、増殖抑制の実験は MTT 法以外にもおこなったのか。

(回答) MTT 法しか行わなかった。

質問 1 3) MK615 が抗酸化作用を介して抗腫瘍効果を認めるのなら、他の抗酸化剤でも同様の作用を示すのか。また MK615 に含まれているどの成分が、今回の結果を導いたかは判明出来なかったか。

(回答) 多種の抗酸化剤による抗腫瘍効果の報告がある。MK615 に含有するトリテルペノイドが今回の効果を示したと考えているが確証はない。純粋な成分を抽出した検討が現在なされている。

質問 1 4) 臨床研究に関してだが、結果的に多臓器転移しなくなったが、ミサトールの内服は継続していなかったのか。

(回答) 内服継続していたのだが、多臓器転移を起こした。しかし通常より生存期間は延長したと考えている。

質問 1 5) 使用した 3 つの細胞株に特性の違いがあるのか。

(回答) 今回使用した A375 細胞では、Id-1 が強く発現していた。A375 は無色素性悪性黒色腫細胞株であり、分化度が低く、悪性度が高い特徴がある。

質問 1 6) 精製したトリテルペノイドのみでの実験は、行わなかったのか。

(回答) 今回トリテルペノイドのみでの実験は行っていないが、精製したトリテルペノイドが増殖抑制、アポトーシスを誘導することが多数報告されている。

質問 1 7) ミサトール 1 日分に含まれている梅個数は大体何個ぐらいか。

(回答) 具体的な個数は、把握していないが、かなり大量の梅である。

質問 1 8) ERK の上流には多数の経路があるが、悪性黒色腫で ERK のリン酸化が亢進している原因は何かあるのか。

(回答) 悪性黒色腫の患者の約 60%で、B-Raf の mutation がある。B-Raf の mutation があると、Id-1 の発現が亢進しているとの報告もあり、ERK-Id-1 経路の上流に Raf があると考えている。

質問 1 9) MK615 で、Id-1 mRNA の発現が抑制されているが、その発現の機序と制御因子は分かっているのか。

Id-1 が増殖抑制、アポトーシス誘導の因子であるとのことだが、Bcl-2 以外にも作用する分子があるのか。

(回答) 機序や制御因子など判明している。Id-1 は、bax や VEGF などの制御もしていると報告がある。

質問 2 0) 1 例で著効したようだが、何例で投与したのか。著効した 1 例と他の症例では組織等何か違いがあるのか。

(回答) 悪性黒色腫以外の皮膚腫瘍を含め 20 数例で投与しているが、著効したのは 1 例のみである。ただ病期の進行した例への投与が中心となっているのが一因かもしれない。効果を認めた症例を積み重ねることが出来たら、特徴をつかめるのではないかと考える。

質問 2 1) B-Raf の mutation がある場合に MK615 の効果がでると考えると、効果に個体差があることの説明が可能であるが、この患者での B-raf の mutation はどうであったか。

(回答) この患者で B-raf の mutation は調べていない。実験で効果を認めた A375 細胞は、B-Raf の mutation を認める。

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。