

(様式 13)

氏名(本籍) 牛尾 亮介 (東京都)  
学位の種類 博士(歯学)  
学位記番号 甲 第401号  
学位授与日 2022年3月15日  
学位授与の要件 博士の学位論文提出者(学位規程第11条第1項該当者)  
学位論文題目 口腔扁平上皮癌細胞に対するメチル基転移酵素阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の併用処理による細胞傷害作用の増強

論文審査委員 (主査) 教授 山本 信治  
(副査) 教授 大森 喜弘  
(副査) 教授 竹島 浩  
(副査) 教授 菊池 建太郎

### 論文内容の要旨

細胞のがん化は、遺伝子変異などのゲノム異常と DNA のメチル化やヒストンタンパク質のメチル化、アセチル化などの修飾により起こるエピゲノム異常が関与している。がん細胞の増殖やがん関連遺伝子の発現制御における DNA メチル基転移酵素阻害剤(DNMTi)、ヒストンメチル基転移酵素阻害剤(HMTi)、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 HDACi)の口腔扁平上皮癌に対するこれら阻害剤の併用効果やその抗がん作用の分子機構については十分には明らかにはされていない。本研究は口腔扁平上皮癌細胞に対する DNMTi, HMTi, HDACi の併用処理による細胞傷害作用とその分子機構について検討を行った。ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 Ca9-22, HSC-2 細胞に種々な濃度の DNMTi (5-Aza-2'-deoxycytidine: 5-Aza-dC, RG108), HMTi (3-deazaneplanocin A: DZNep), HDACi (trichostatin A : TSA) を添加し、細胞増殖率を測定した。5-Aza-dC, TSA は、単独処理で濃度依存的に両細胞の細胞増殖率を低下させ、低濃度の 5-Aza-dC と TSA, RG108 と TSA の併用処理により細胞増殖率のさらなる低下が認められた。また Ca9-22 細胞では DZNep と TSA の併用処理によっても細胞増殖率のさらなる低下を認めた。この細胞増殖率の低下にアポトーシスあるいは細胞周期の停止が関与しているか検討したところ、Ca9-22 細胞では DZNep と TSA の併用処理により caspase 活性の有意な増強が認められたが HSC-2 細胞では caspase 活性の増強は認められなかった。細胞周期解析から Ca9-22 細胞では DZNep と TSA、RG と TSA の併用処理により S 期、G2/M 期の増加が認められた。HSC-2 細胞では、5-Aza-dC と TSA の併用処理により S 期、G2/M 期の増加が認められた。この細胞周期の停止に DNA 損傷が関わっているか、二本鎖 DNA 切断の指標であるヒストンバリエント H2AX のリン酸化 ( $\gamma$ H2A.X) について検討した結果、併用処理により  $\gamma$ H2A.X は増強が認められた。以上の結果から、DNMTi と TSA の併用処理による細胞増殖率の低下は、アポトーシス単独によるものではなく DNA 傷害による S 期、G2/M 期での細胞周期の停止が関与していることが示唆された。また Ca9-22 細胞では DZNep と TSA の併用処理でアポトーシスと S 期、G2/M 期での細胞周期の停止が関与していることが示唆された。本研究から得られた知見は、低濃度の DNMTi, HMTi, HDACi の併用によるエピゲノム療法が口腔扁平上皮癌に対して有効であることを示唆するものである。

### 論文審査および試験結果の要旨

本論文は口腔扁平上皮癌細胞に対するメチル基転移酵素阻害剤とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の併用処理による細胞傷害作用の増強について検索した結果、低濃度の DNMTi, HMTi, HDACi の併用によるエピゲノム療法が口腔扁平上皮癌に対して有効であることを示唆すると結論づけており、临床上非常に有意義な情報を提供している。明海大学歯学部病態診断治療学講座口腔顎顔面外科学分野 大学院生、牛尾亮介に対する最終試験は、2022年1月11日、主査 山本信治教授、副査 大森喜弘教授、竹島浩教授、菊池建太郎教授により、主論文の内容に関し、口頭試問をもって実施された。また、語学試験は英語の文献読解力について筆記試験により実施した結果、いずれも合格と認め、よって申請者：牛尾 亮介は、博士(歯学)の学位を授与されるに値するものと判断した。