

氏名	わた なべ けんいちろう 渡 邊 健 一 郎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2277 号
学位授与の日付	平 成 12 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Prevention of etoposide-induced apoptosis by proteasome inhibitors in a human leukemic cell line but not in fresh acute leukemia blasts: A differential role of NF- κ B activation. (プロテアソーム阻害剤によってエトポサイドによるアポトーシスは白血病細胞株では抑制されるが、急性白血病患者より分離した芽球では抑制されない異なる NF- κ B の役割に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 上 田 國 寛 教 授 内 山 卓 教 授 中 畑 龍 俊

論 文 内 容 の 要 旨

NF- κ B はサイトカイン等種々の遺伝子の発現を司り、発生や免疫、炎症において重要な役割を果たしている転写因子であるが、最近、アポトーシスの重要な制御因子であることが明らかになった。しかし、その役割は多様で、NF- κ B がアポトーシスを抑制する因子であると報告される一方で、アポトーシスを促進する方向に働くとする報告もある。NF- κ B は、その抑制蛋白である I κ B α のリン酸化に続くプロテアソームによる分解を通じて、活性化される。プロテアソーム阻害剤は、I κ B α の分解を抑制することで NF- κ B 活性化を阻害することが可能である。我々は抗癌剤による白血病細胞のアポトーシスの早期に NF- κ B が活性化されることを初めて報告したが、今回その役割を解明するためプロテアソーム阻害剤を用いて検討を行った。

ヒト白血病細胞株である U937 に Etoposide 10 μ g/ml を作用させると、アポトーシスが誘導され、6 時間後には 50% の細胞が形態的变化をおこした。プロテアソーム阻害剤である MG132 10 μ M、または N-acetyl-leucil-leucil-norleucinal (LLnL) 25 μ M で 30 分間前処置するとアポトーシスは抑制され、6 時間後でも 10% にとどまった。MG132, LLnL は Caspase-3 の活性化も抑制していた。

U937 に Etoposide を添加すると 2 時間をピークとして NF- κ B の活性化がみられた。MG132, LLnL はこの NF- κ B 活性化も抑制した。Etoposide 添加によって I κ B α はリン酸化をうけ分解されたが、MG132, LLnL は I κ B α のリン酸化の抑制を伴わずその分解を抑制しており、MG132, LLnL が I κ B α のプロテアソームによる分解を阻害することで NF- κ B 活性化を抑制していることが確かめられた。

さらに、異なる機序の NF- κ B 活性化阻害剤である、pyrrolidine dithiocarbamate (抗酸化剤)、SN50 (NF- κ B 核移行阻害薬) によっても、U937 の Etoposide によるアポトーシスは抑制された。

以上の結果より U937 の Etoposide によるアポトーシスにおいては、NF- κ B 活性化はアポトーシスを促進する方向に働いていることが示唆された。

次に、急性白血病の臨床検体を用いて、MG132, LLnL の Etoposide によるアポトーシス及び NF- κ B 活性化に対する効果を検討した。未治療で芽球の割合が 90% 以上の、様々な lineage の急性白血病患者 5 例の末梢血より単核球を分離し、各々、コントロール、Etoposide 単独、プロテアソーム阻害剤単独、Etoposide とプロテアソーム阻害剤存在下で培養した。MG132, LLnL は Etoposide による NF- κ B 活性化は抑制したが、U937 での結果と異なり、Etoposide によるアポトーシスは抑制せず、むしろ単独でアポトーシスを誘導した。このことから、同じ白血病細胞でも細胞株である U937 と臨床検体とは、Etoposide によるアポトーシスにおける NF- κ B 活性化の役割が異なっていると考えられた。

NF- κ B がアポトーシスを抑制するように働く系では、NF- κ B 活性化を阻害することで感受性を高めることが可能なこ

とより、耐性の克服に応用できるとする報告がなされている。しかし、NF- κ B の役割は細胞や刺激の種類によって異なっており、各々の系について検討が必要で、さらに NF- κ B の下流で働くアポトーシス制御遺伝子の解明が重要であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

最近、転写因子 NF- κ B がアポトーシスの重要な制御因子であることが明らかになったが、その役割は多様である。NF- κ B は、その抑制蛋白である I κ B α のリン酸化に続くプロテアソームによる分解を通じて活性化されるため、プロテアソーム阻害剤は、I κ B α の分解を抑制することで NF- κ B 活性化を阻害することが可能である。本研究は、抗癌剤による白血病細胞のアポトーシスにおける NF- κ B の役割を、主にプロテアソーム阻害剤を用いて検討したものである。

ヒト白血病細胞株 U937 において、プロテアソーム阻害剤はエトポサイドによって誘導されるアポトーシスを抑制すると共に、NF- κ B 活性化を抑制した。プロテアソーム阻害剤は NF- κ B の抑制蛋白である I κ B α のリン酸化の抑制を伴わずに分解を阻害しており、プロテアソーム阻害とは異なる機序の NF- κ B 阻害剤でもアポトーシスは抑制された。急性白血病患者から分離した白血病細胞での検討では、プロテアソーム阻害剤は、NF- κ B 活性化を抑制したが、アポトーシスは抑制しなかった。以上の結果より、U937 のエトポサイドによるアポトーシスにおいては、NF- κ B はアポトーシスを促進する方向に働いているが、臨床検体では必ずしも同様の役割をしていないことが示唆された。

本研究は NF- κ B の役割が白血病の細胞株と臨床検体では異なっていることを示しており、今後 NF- κ B の下流で働くアポトーシス制御遺伝子の解明に繋がるものと期待される。

癌治療において、化学療法は欠かせないものであり、抗癌剤による細胞死機構の研究は非常に重要であり、本研究は抗癌剤によるアポトーシスの機構の解明に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年6月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。