

氏名	佐藤賢文
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2833号
学位授与の日付	平成17年3月23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	Proteasome inhibitor, bortezomib, potently inhibits the growth of adult T-cell leukemia cells both in vivo and in vitro (プロテアソーム阻害剤である Bortezomib は in vitro, in vivo のいずれにおいても成人 T 細胞白血病細胞の増殖を効果的に抑制する)
論文調査委員	(主査) 教授 小柳義夫 教授 内山卓 教授 前川平

論文内容の要旨

成人 T 細胞性白血病 (ATL; adult T-cell leukemia) はヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I; human T-cell leukemia virus type I) の感染により引き起こされる T リンパ球の腫瘍性疾患である。現在も我が国の南九州を中心に、約 100 万人の HTLV-I 抗体陽性者が存在し、年間およそ 800 人が ATL を発症している。強力な化学療法でも平均の生存期間は約 1 年程度と極めて予後不良である。その治療抵抗性の一つの原因として NF- κ B (nuclear factor κ B) の活性化による apoptosis 抵抗性遺伝子の発現亢進が考えられている。本研究では NF- κ B 阻害作用を有する Proteasome inhibitor である Bortezomib を用いて ATL 細胞に対する効果を検討した。

HTLV-I 関連細胞株における Bortezomib の薬剤感受性を検討した結果、HTLV-I 関連細胞株ではその他の T 細胞株に比べ感受性が高いことがわかった。それらの細胞株における NF- κ B の活性化を調べたところ HTLV-I 関連細胞株ではその他の T 細胞株に比べ活性が高かった。また Bortezomib 感受性と NF- κ B 活性には正の相関関係が認められたことから、Bortezomib は NF- κ B を抑制することにより HTLV-I 関連細胞株の増殖抑制効果を示すと考えられた。実際に Bortezomib は HTLV-I 関連細胞株に対して低濃度の条件下でリン酸化 I κ B α を蓄積させ、NF- κ B の活性を抑制した。

次に、Bortezomib 処理により ATL 細胞株が apoptosis を誘導されるかどうか TUNEL assay を用いて検討したところ、薬剤処理 24 時間後に apoptosis を認めた。更にカスパーゼ阻害剤を用いることで Bortezomib による apoptosis の詳細な検討を試みた。カスパーゼ阻害剤 zVAD (カスパーゼ 1, 3, 4, 7, 8 を阻害) を加えることによって Bortezomib による apoptosis は阻害されたものの、細胞死は阻害されなかった。それらの薬剤処理後の ATL 細胞株の形態学的な変化を電子顕微鏡で観察したところ Bortezomib 単剤処理後 12 時間で、細胞質の縮小、核の濃縮、断片化など典型的な apoptosis の所見を認めたのに対し、Bortezomib と zVAD との同時処理 18 時間後において細胞の腫大、ミトコンドリアマトリックスの腫大など necrosis 様の変化を認めた。そのことから、Bortezomib は ATL 細胞に対して apoptosis だけでなく necrosis も介して効果を示していることが示唆された。

更に、Bortezomib の治療薬としての効果を判定するために SCID (severe combined immunodeficiency disease) mouse を用いた Xenograft model における効果を検討した。その結果、*in vitro* と同様に *in vivo* においても Bortezomib は ATL 細胞に対する抗腫瘍効果を示した。また、ATL 患者から採取した新鮮 ATL 細胞に対しても低濃度の条件下でリン酸化 I κ B α の蓄積、apoptosis を起こすことを確認した。

以上の結果から Bortezomib は ATL に対して有効な治療薬となりうる可能性が高いと考えられた。

論文審査の結果の要旨

成人 T 細胞性白血病 (ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) の感染により引き起こされる T リンパ球の腫瘍性疾患である。ATL の治療抵抗性の一つの原因として NF- κ B の活性化によるアポトーシス抵抗性遺伝子の発現亢

進が考えられている。本研究では NF- κ B 阻害作用を有するプロテアソーム阻害剤である Bortezomib を用いて ATL 細胞に対する抗腫瘍効果を解析した。Bortezomib は ATL 細胞株に対して極めて低濃度でリン酸化 I κ B α を蓄積させ、NF- κ B を抑制し、アポトーシスを誘導した。カスパーゼ阻害剤を添加したところ細胞死は抑制されずネクローシスの経路を介したものであることが明らかとなった。薬剤感受性と NF- κ B の活性化には正の相関関係を認めたことから Bortezomib による抗腫瘍効果は、NF- κ B の抑制が主な作用機序と考えられた。更に、免疫不全マウスを用いた Xenograft model において明らかな副作用を認めず、ATL 細胞株に対して腫瘍増殖抑制効果を示した。また、ATL 患者から採取した新鮮 ATL 細胞に対しても低濃度の条件下でリン酸化 I κ B の蓄積を示し、アポトーシスを誘導することが確認された。本研究の結果から Bortezomib は *in vitro*, *in vivo* の何れにおいても ATL 細胞増殖を効果的に抑制する事が明らかとなり、ATL に対する有効な治療薬となりうる可能性が高いと考えられた。

以上の研究はプロテアソーム阻害剤の ATL 細胞に対する効果を明らかにしたものであり、ATL の治療に寄与するところが多い。

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17年1月24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。