京都大学	博士（医学）	氏　名	横田　明日美
論文題目	INNO-406, a novel BCR-ABL/Lyn dual tyrosine kinase inhibitor, suppresses the growth of Ph^+ leukemia cells in the central nervous system, and cyclosporine A augments its in vivo activity. (新規 BCR-ABL/Lyn 同時阻害剤 INNO-406 は中枢神経において Ph^+白血病細胞の増殖を抑制し、シクロスポリン A は in vivo で INNO-406 の抗腫瘍活性を増強する)		

（論文内容の要旨）

慢性骨髄性白血病（CML）では、Abl チロシンキナーゼ阻害剤 imatinib mesylate (Glivec®) (IM) が現在第一選択薬として使用されており、CML 治療は劇的に改善された。慢性期 CML に対して、IM は優れた治療効果を示すが、進行した CML やフィラデルフィア染色体（Ph）陽性 ALL では、Abl キナーゼドメイン内の点突然変異出現などの理由から、比較的早期に再発をきたす症例も多い。最近、IM 長期服用患者において中枢神経系 (central nervous system: CNS) 再発が問題となってきた。IM は、血液脳関門（blood brain barrier; BBB）を構成する P 糖蛋白（P-gp）の基質となり、CNS からの排出を受けるために、経口投与による血中への吸収性には優れているが、血中から CNS への移行性には乏しい。IM 服用患者の髄液中 IM 濃度の測定結果から、IM は白血病細胞に対して抗腫瘍効果を発揮するのに十分な濃度が CNS 内で得られていないことが報告されている

本研究では、当研究室と日本新薬の共同研究により開発された、新規 Bcr-Abl 阻害剤 Bafetinib（論文公表時の名称は、NS-187 または INNO-406）が、CNS 内の白血病細胞に対して効果を示すことができるかについて、*in vitro* および *in vivo* で検討を行った。ヒト CML 細胞株 K562 に対し、Bafetinib は IM と比して 10 倍以上強力な増殖抑制効果を示したが、P-gp 高発現株 K562/D1-9 では効果が減弱した。さらに、ブタ腎上皮由来細胞株 LLC-PK_1 と P-gp 高発現株 LLC-GA5-COL150 において、Bafetinib の細胞内取り込み量を比較したところ、LLC-GA5-COL150 では Bafetinib の取り込み量は有意に減少していたが、P-gp 阻害剤シクロスポリン（CsA）添加によって回復した。これらから、Bafetinib も IM 同様 P-gp の基質となることが明らかになった。次に、Bafetinib を経口投与したマウスの血漿および脳組織内濃度を測定した。30 mg/kg 経口投与時の脳組織内濃度は、血漿中の 1/10 であったが、最高 87 nM に達した。*In vitro* における Ph^+白血病細胞株に対する Bafetinib の IC_{50}は数 10 nM 以下であることから、CNS 白血病に対する *in vivo* での効果が期待された。マウス脳室内に白血病細胞株を直接移植し、今回新たに樹立した 2 種類の CNS 白血病マウスモデル（Balb/cA Jcl-nu マウスにマウス pro B 細胞由来 Ba/F3/wt *bcr-abl*^{GFP} を移植した系、および NOD/SCID マウスに $K562^{GFP}$ を移植した系）において、CNS 白血病に対する効果を検討した。両モデルにおいて、Bafetinib は単剤で濃度依存性（20～120 mg/kg/day）に CNS 内の白血病細胞の増殖を抑制し、有意に生存期間を延長した。一方、IM の効果は乏しかった。さらに、P-gp 阻害剤 CsA の併用は、脳組織中 Bafetinib 濃度を約 2 倍に増加させ、Bafetinib 単剤投与よりも有意に白血病細胞の増殖を強力に抑制し、生存期間を延長した。

今回の研究結果によって、CML あるいは Ph^+ ALL 治療において、Bafetinib が CNS 白血病合併の予防および治療に有効であり、さらに CsA 併用がこの効果を増強する可能性が示唆され、早期の臨床応用が期待された。

（論文審査の結果の要旨）

Imatinib mesylate(IM)は血液脳関門を構成するP糖蛋白（P－gp)の基質となり、IM服用慢性骨髄性白血病(CML)患者において中枢神経系(CNS)再発の増加が問題となっている。本研究では、IM耐性克服を目指し最近開発された新規BCR-ABL阻害剤Bafet:n:b-406のCNS白血病に対する効果が検討された。

申請者はP-gp高発現株と親株に対する本薬剤の増殖抑制効果ならびに細胞内薬剤取り込み量の比較を行い、またP-gp阻害剤 Cyclosporin A (CsA)添加がP-gp高発現株の細胞内薬剤濃度を上昇させることを示し、本薬剤がP-gpの基質であることを明らかにした。マウスに経口投与した際、P-gpによる排出を受けるため本薬剤のCNS内濃度はIMと同様血中濃度の約10%になったが、白血病細胞株に対する本薬剤のIC_{50}より充分に高く、CsAの前投与によりCNS内濃度はさらに上昇した。脳室内に白血病細胞株を移植したCNS白血病モデルマウスにおいて、本薬剤はCNS内の白血病細胞の増殖をIMより強力に抑制し、生存期間を有意に延長した。CsA併用によりその効果は*in vivo*でも増強されることを確認した。

以上の研究は、CML症例におけるCNS白血病の治療または予防的治療薬として本分子がIMを凌駕することを示唆し、臨床試験中の本薬剤の有用性を支持するきわめて重要な情報となった。

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21年7月16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。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降