

京都大学	博士（医科学）	氏名	田中瑠璃子
論文題目	Activity of the multi-targeted kinase inhibitor, AT9283, in imatinib-resistant BCR-ABL positive leukemic cells. (イマチニブ抵抗性 BCR-ABL 陽性白血病細胞におけるマルチターゲット型キナーゼ阻害剤 AT9283 の作用機序と有用性に関する検討)		
(論文内容の要旨)			
慢性骨髄性白血病(chronic myeloid leukemia; CML) は、9 番と 22 番染色体の相互転座で生じる BCR-ABL キメラタンパクにおける ABL キナーゼの恒常的活性化が原因である。ABL チロシンキナーゼ阻害剤・メシル酸イマチニブ(IM)が開発され、CML の治療は大きなパラダイムシフトを遂げたことは周知である。しかし、初期から IM による治療に難渋する症例や、一度寛解を得た症例においても治療抵抗性を獲得して再発する症例が問題となっている。IM に対する耐性の主な原因は、IM の結合部位である ABL キナーゼドメイン(KD)に生じる点突然変異であり、現在約 90 種類の変異が報告されている。変異 ABL に有効な薬剤として第 2 世代 ABL 阻害剤がすでに開発され、IM 耐性をきたす多くの変異に有効である。しかし、いずれの阻害剤も T315I (ABL KD の 315 番目のアミノ酸がスレオニンからイソロイシンに置換) の遺伝子変異を有する症例には無効である。また、T315I 変異出現例の予後は不良で、現時点で有効な治療法は造血幹細胞移植に限られる。したがって、T315I 変異を有する症例にも有効な新規薬剤の開発は CML 治療において喫緊の課題である。 T315Iに対しても有効な薬剤の開発を目的として、新規ABL/Aurora/JAK2 阻害剤AT9283 に着目し、その効果について検討した。ABL変異種を導入したマウスB細胞株BaF3 に対するAT9283 のIC₅₀は 8 ～33 nM、BaF3/T315Iに対するIC₅₀は 11nMであり、その増殖抑制機序はアポトーシスの誘導であることを明らかにした。また、PI染色によって細胞周期を解析したところ、CML以外のBCR-ABL陰性細胞株であるNalm6 (ヒトB細胞白血病細胞株)、Jurkat (ヒトT細胞白血病細胞株)、KG1a (ヒト急性骨髄性白血病株) についてはAT9283 が核の多倍体化を引き起こしていたのに対し、BCR-ABL陽性細胞株については多倍体化が顕著ではなく、sub-G₁期の増加、すなわち死細胞が顕著に増加していた。これらのことから、AT9283 はABLとAuroraの双方を阻害することで細胞傷害活性を示し、とりわけBCR-ABL陽性細胞株に対してはAurora kinaseの阻害よりも、ABL kinaseの阻害の方が主たる作用であることが示唆された。また、<i>in vivo</i>における検討では、BaF3/wt、BaF3/T315IあるいはK562 (ヒトCML細胞株) 皮下移植モデルにおいて、AT9283 は 7.5～12.5 mg/kg BIDで腫瘍の増殖抑制効果が認められた。K562 モデルにおいては12.5mg/kg投与群のマウスのうち半数が 90 日後には腫瘍が消失していた。さらに、T315Iをもつ患者白血病細胞を移植して作製した白血病モデルマウスにおいては、AT9283 は 10 mg/kg、15 mg/kgそれぞれの投与群において有意な生存率の延長を認めた。 以上のことから AT9283 は野生型 BCR-ABL のみならず T315I 変異に対しても有効であり、今後の臨床応用が期待される。			

(論文審査の結果の要旨)
慢性骨髄性白血病 (CML) 治療の第一選択薬であるメチル酸イマチニブ Imatinib (IM) に抵抗を示す症例の存在が問題となっている。特に T315I 変異をもつ症例は予後不良で、IM のみならず第二世代の分子標的治療薬も無効であり、現時点で有効な治療法は造血幹細胞移植に限られている。申請者らは T315I 変異をもつ CML に対する Aurora/ JAK/ ABL マルチキナーゼ阻害剤 AT9283 の効果を検討した。 AT9283 は親株と同様に T315I 変異発現細胞株においても BCR-ABL の下流シグナル伝達を阻害し増殖を抑制した。さらに申請者は BCR-ABL 陰性と陽性細胞株の AT9283 による細胞死誘導機序を検討し、CML においては Aurora kinase の阻害作用よりも、直接的な BCR-ABL 阻害が主たる作用であることを示した。AT9283 腹腔内投与により、CML 細胞株移植マウスにおいて腫瘍の縮小が認められた。特に、K562 モデルにおいては AT9283 12.5mg/kg 投与群のマウスのうち半数で 90 日後に腫瘍が消失していた。T315I 変異を有する患者由来白血病細胞を移植した T315I 白血病モデルマウスの生存期間を本薬剤は有意に延長させた。 以上の研究は、T315I 変異を有する難治性 CML 治療において、本薬剤が IM 耐性を克服しうることを示すきわめて重要な情報となった。 したがって、本論文は博士（医科学）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 22 年 11 月 29 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