

氏 名	いま い つよし 今 井 剛
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1902 号
学位授与の日付	平 成 18 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	FR901228 induces tumor regression associated with induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells (FR901228 のヒト骨肉腫細胞における Fas リガンド誘導と Fas シグナルの活性化を介した腫瘍縮小効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 中 村 孝 志 教 授 武 藤 誠

論 文 内 容 の 要 旨

骨肉腫は小児および若年成人における骨原発悪性腫瘍として最も頻度が高く、なかでも、初期より遠隔転移を示す症例や、切除不能の骨盤あるいは体幹骨格原発の症例は多剤併用化学療法を中心とする集学的治療を行っても予後不良で、新規薬剤の開発が望まれている。近年、ヒストン脱アセチル化酵素（以下、HDAC）を分子標的の一つとして、その阻害剤のいくつかについて成人悪性腫瘍を対象とした臨床試験が開始されているが、その抗腫瘍活性発現の機序についてはまだ十分には解明されていない。骨肉腫細胞に対する HDAC 阻害剤 FR901228（以下、FR）の抗腫瘍効果およびその機序を詳細に解析した。

p53 遺伝子および Rb 遺伝子の変異の有無が確認されている 8 種類のヒト骨肉腫細胞株を用いた。FR は 8 種類全ての細胞株に対して、濃度依存的に細胞増殖抑制効果を示し、その IC₅₀ は、1.2 nM から 7.3 nM の範囲であった。また FR による細胞増殖抑制効果にはアポトーシス誘導が関与することが確認された。FR は濃度および時間依存的にアポトーシスを誘導した。このアポトーシス誘導に先行して、FR の投与後 1 時間よりヒストン H3 および H4 のアセチル化が、さらに、Fas リガンド（以下、FasL）の mRNA レベルでの発現誘導、それに引き続く膜結合型 FasL の発現誘導、およびカスパーゼ 8 そしてカスパーゼ 3 の活性化が認められた。FR によって誘導されるアポトーシスは、カスパーゼ 8 阻害剤、カスパーゼ 3 阻害剤、および抗 FasL 中和抗体の前処理によって抑制された。FADD ドミナントネガティブあるいは viral FLIP E8 をトランスフェクションにより過剰発現させた細胞でも、FR のアポトーシス誘導の抑制が見られた。さらに、単独ではアポトーシスを誘導しない低濃度の FR 投与によって、骨肉腫細胞の、agonistic 抗 Fas 抗体（CH-11）誘導性のアポトーシスに対する感受性が増大した。BALB/c ノードマウスを用いてヒト骨肉腫細胞の皮下移植モデルを作成し、FR の尾静脈内投与による抗腫瘍効果を検討した結果、FR は、投与濃度依存的に腫瘍増殖抑制効果あるいは腫瘍縮小効果を示した。腫瘍組織切片の HE 染色および TUNEL 法による解析では、アポトーシス誘導が確認された。

以上の結果から、FR はヒト骨肉腫細胞に対して、FasL の誘導と Fas シグナル伝達系の活性化を介してアポトーシスを誘導すること、また実際に in vivo においても強力な抗腫瘍作用を有することが示された。HDAC 阻害剤である FR は、骨肉腫の治療薬の一つになりうると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

骨肉腫細胞に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 FR901228（以下、FR）の抗腫瘍活性発現機序を詳細に解析し、Fas リガンド（以下、FasL）の発現誘導および Fas シグナルの活性化によるアポトーシスを介すること、in vivo においても著明な腫瘍縮小効果が得られることを報告したものである。

申請者は 8 種類のヒト骨肉腫細胞株を用いて、FR が p53、Rb 遺伝子の status に関係なく、低濃度（nM）でアポトーシス誘導を本体とする細胞増殖抑制効果を有することを見出しその機序を解析した。FR によりヒストン H3、H4 のアセチル

化, FasL mRNA の発現, 膜結合型 FasL の発現, カスパーゼ 8, カスパーゼ 3 の活性化が連動することを確認した。カスパーゼ 8, 3 阻害剤, 抗 FasL 中和抗体によりアポトーシスが抑制されること, 遺伝子導入により FADD ドミナントネガティブおよび vFLIP を過剰発現させた細胞では, FR によるアポトーシスが抑制されることを示した。さらに FR が agonistic 抗 Fas 抗体による Fas シグナル刺激によるアポトーシス誘導を増強することを示した。骨肉腫培養細胞を移植したモデルマウスの解析で, FR の腫瘍増殖抑制・腫瘍縮小効果を in vivo においても証明した。

以上の研究はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の抗腫瘍活性発現の機序の解明に貢献し, 新しい癌化学療法確立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, 本学位授与予定者は, 平成18年3月6日実施の論文内容とそれに関連した研究分野ならびに学識確認のための試問を受け合格と認められたものである。