

授与番号	甲第 1911 号
------	-----------

論文内容の要旨

Dimethyl fumarate induces apoptosis via inhibiting NF- κ B and STAT3 signaling in adult T-cell leukemia/lymphoma cells

(フマル酸ジメチルは成人 T 細胞性白血病細胞において NF- κ B および STAT3 シグナル阻害を介してアポトーシスを誘導する)

(前田峻大, 佐藤剛, 浅野雄哉, 伊藤薫樹)

(ANTICANCER RESERCH 42 巻, 5 号 令和 4 年 5 月掲載)

I. 研究目的

成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) はヒト T リンパ球向性ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1) に感染した T 細胞が腫瘍化した疾患で, 抗がん化学療法では予後不良であり造血幹細胞移植以外では治癒が困難なため有効な治療薬の開発が求められている. フマル酸ジメチル (dimethyl fumarate: DMF) は悪性リンパ腫や乳癌などのがん細胞において細胞増殖や細胞死, 細胞内シグナル経路の阻害などの抗腫瘍効果を有していることが報告されているが, ATL 細胞における DMF の抗腫瘍効果は不明である. 本研究では ATL 細胞における DMF の抗腫瘍効果を検討した.

II. 研究対象ならび方法

HTLV-1 形質転換 T 細胞株および HTLV-1 感染細胞株である MT-1 および MT-2 細胞に対して DMF 存在下 (最終濃度 $50 \mu\text{M}$ および $100 \mu\text{M}$), 非存在下 (対照: DMSO) で, 24 時間および 48 時間培養した後, トリパンブルー色素排除法およびアネキシン V/ヨウ化プロピジウム染色によるフローサイトメトリー法を用いて, 細胞増殖およびアポトーシスに対する DMF の効果を検討した. また, SDS-PAGE およびウエスタンブロッティング法により, Nuclear factor- κ B (NF- κ B), signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) シグナル伝達経路および抗アポトーシス蛋白の発現に対する DMF の影響を評価した. NF- κ B の活性化の評価のために, 両細胞の DMF 処理後に細胞質画分および核画分を抽出した.

DMF による細胞増殖抑制効果は対照群に対する抑制割合で, また, アポトーシス誘導効果はアネキシン V 陽性細胞割合で算出し, 一元配置分散分析 (analysis of variance: ANOVA) を用いて統計学的解析を行なった. $P < 0.05$ を有意差有りとした.

III. 研究結果

1. DMF 処理を 24 時間と 48 時間で行った MT-1 細胞および MT-2 細胞ではいずれも用量依存性に細胞の増殖を抑制した ($P < 0.05$). また, 用量依存性にアポトーシスを誘導した ($P < 0.05$). これらの誘導効果は MT-1 細胞に比べて MT-2 細胞で強かった.
2. DMF により MT-1 および MT-2 細胞における $I\kappa B\alpha$ のリン酸化が抑制された. さらに, DMF は両細胞において用量依存性に PARP の活性化を誘導した.
3. NF- κ B 分子に対する DMF の影響を検討したところ, MT-1 細胞では $100\ \mu\text{M}$ の DMF で 48 時間処理により核内の RelB の発現が抑制された. 一方, MT-2 細胞では $50\ \mu\text{M}$ および $100\ \mu\text{M}$ の DMF で 24 時間処理により, 用量依存性に核内での p52, RelB, および p65 の発現が抑制された. また, 両細胞において STAT3 の恒常的チロシンリン酸化が DMF により抑制された.
4. DMF は MT-1 および MT-2 細胞において, NF- κ B および STAT3 の下流標的として知られる抗アポトーシス分子の cIAP-2 と Survivin の発現を阻害した.

IV. 結 語

DMF は HTLV-1 感染および形質転換 T 細胞において NF- κ B および STAT3 シグナル経路を抑制することにより, 細胞増殖を抑制しアポトーシスを誘導することが示された.

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 片岡 竜貴 (病理学講座：機能病態学分野)
副査 講師 阿保 亜紀子 (医歯薬総合研医療開発研究部門)
副査 教授 遠藤 幹也 (小児科学講座)

近年、フマル酸ジメチル (DMF) がびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫・慢性皮膚 T 細胞リンパ腫・乳癌細胞に対して、Signal transducer and activator of transcription (STAT) 3・NF- κ B シグナルを抑制し細胞死を誘導することが報告されている。本研究論文は、DMF が成人型 T 細胞性白血病 (ATL) に対しても細胞死を誘導するか、ヒト ATL 細胞株 MT-1・MT-2 を用いて *in vitro* で検証した論文である。DMF は両細胞株の生存率を低下させることが、トリパン青排除アッセイで確認された。また、DMF が両細胞株のアポトーシスを誘導することが、Annexin V・Propidium Iodide を指標にしたフローサイトメトリー法で確認された。そして、Western blotting を用いて、DMF が STAT3・NF- κ B シグナルを抑制することが示された。

本論文は、DMF が ATL の治療に役立つ有益な知見を示した研究といえる。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

DMF の作用機序や STAT3・NF- κ B 以外のシグナル伝達系への影響・ATL の臨床的分類とそれに対応した STAT3・NF- κ B 状態・*in vitro* 実験系で用いられた DMF の濃度が実際の治療で実現できるかについて試問を行い、それぞれに対する適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) ATL の同種末梢血幹細胞移植後二次生着不全に対する G-CSF と eltrombopag の効果 (清原千貴, 他 12 名と共著).
臨床血液 62 巻, 10 号 (2021) : P1499 - 1504
- 2) Measurement of coagulation factor antibody levels is useful for diagnosis and determining therapeutic efficacy in hemorrhagic patients with autoantibodies to coagulation factor VIII and factor V: results from a single center in Japan (凝固第 VIII 因子および第 V 因子に対する自己抗体を有する出血性疾患患者の診断および治療効果判定に凝固因子抗体値測定が有用:国内単一施設での成績) (家子正裕, 他 11 名と共著).
International Journal of Hematology 115 巻, 1 号 (2022) : P11 - 20