

谷口広明 論文内容の要旨

主 論 文

Heat shock protein 90 inhibitor NVP-AUY922 exerts potent activity against adult T-cell leukemia-lymphoma cells.

成人 T 細胞白血病・リンパ腫細胞に対する熱ショック蛋白 90 阻害薬 NVP-AUY922 の有効性の検証

谷口 広明、長谷川 寛雄、佐々木 大介、安東 恒史、澤山 靖、今西 大介、田口 潤、今泉 芳孝、波多 智子、塚崎 邦弘、宇野 直輝、森永 芳智、柳原 克紀、宮崎 泰司

Cancer Science 2014; 105: 1601-1608

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻
(主任指導教員：宮崎泰司教授)

【緒言】

成人 T 細胞白血病・リンパ腫(ATL)は Human T cell leukemia virus type 1(HTLV-1)に感染した CD4 陽性 T 細胞を起源とする難治性の造血器悪性腫瘍である。熱ショック蛋白質 90(HSP90)は分子シャペロンとして働き、細胞内の蛋白質(クライアント蛋白質)の折り畳みに関わる。クライアント蛋白質の多くは細胞の増殖、生存およびアポトーシスの調節に関与し腫瘍化に重要である。HSP90 阻害薬である NVP-AUY922(AUY)は HSP90 の ATPase 活性を競合的に阻害し、その結果クライアント蛋白質はプロテアソームで分解され抗腫瘍効果を発揮する。AUY は様々な癌種において、*in vitro* と *in vivo* での抗腫瘍効果が報告されている。また、進行性固形癌に対する第 1/2 相臨床試験においても有効性が確認されている。ATL における HSP90 阻害薬の有効性に関しては、17-AAG/17-DMAG(ゲルダナマイシン誘導体)の抗腫瘍効果が報告されている。一方で、固形癌に対する臨床試験においてゲルダナマイシン誘導体による重篤な肝障害が報告されたため、様々な次世代の HSP90 阻害薬の開発が進められている。本研究で我々は AUY の ATL 細胞に対する *in vitro* での有効性を初めて報告した。

【対象と方法】

ATL 関連細胞株[HTLV-1 感染細胞株(MT2, HuT102)、ATL 由来細胞株(KK1, KOB, SO4, LM-Y1, ST1)、ATL 患者の CD4 陽性 T 細胞(primary ATL 細胞)、そして健常人の単核球を用いた。細胞増殖阻害実験における細胞生存能は MTS アッセイを用いて評価した。アポトーシスと細胞周期はフローサイトメトリー(FACS)を用いて解析した。遺伝子発現プロファイリングは DNA マイクロアレイ法を用いて解析した。HSP90 クラ

クライアント蛋白質の発現はウエスタンブロット法を用いて解析した。

【結果】

0-100nM の濃度で AUY に曝露された ATL 関連細胞株の 50%阻害濃度は 12.5nM-25.0nM であり、0-25nM で濃度依存性に細胞増殖阻害効果を認めた。また 17-AAG と比較して、より低濃度で細胞株の増殖阻害効果を認めた。重要なこととして、AUY は p53 の変異の有無に関わらず ATL 関連細胞株に対する抗腫瘍効果を認めた。さらに健常人の単核球と比較して、primary ATL 細胞で有意な細胞増殖阻害効果を認めた。AUY は ATL 関連細胞株に対して細胞周期の停止(sub G1+G1 期の増加)とアポトーシスを誘導した。AUY に曝露された ATL 関連細胞株では、濃度依存性に p-Akt, Akt, IKK α , IKK β , IKK γ , Cdk4, Cdk6, survivin の蛋白減少を認めた。さらに AUY による proviral integration site for Moloney murine leukemia virus(PIM)キナーゼの減少を DNA マイクロアレイ法とウエスタンブロット法で確認した。PIM キナーゼ阻害薬 SGI-1776 は ATL 関連細胞株だけでなく primary ATL 細胞に対しても細胞増殖阻害効果を有していた。

【考察】

これまで有効性が報告された 17-AAG/17-DMAG と比較して、AUY はより低濃度で ATL 細胞の増殖阻害効果を認めることが明らかとなった。癌細胞の HSP90 は正常細胞のそれと比較して ATP との結合能が高いため、癌細胞選択的に阻害効果を認めることが報告されている。本研究においても、AUY は健常人の単核球と比較して primary ATL 細胞の増殖を有意に阻害した。ATL では NF-kappa B 経路や PI3K/Akt 経路の活性化が細胞生存や増殖に寄与している。我々は AUY による ATL 関連細胞の細胞死の機序がアポトーシスと細胞周期の停止であり、p-Akt, Akt, IKK α , IKK β , IKK γ , Cdk4, Cdk6, survivin といったクライアント蛋白質の発現減少により NF-kappa B 経路や PI3K/Akt 経路の活性化を抑制していることが示唆された。今回我々は、ATL において AUY が PIM の発現減少に関与し、さらに PIM を阻害することが ATL の細胞死を起こすことを明らかにした。PIM は造血器悪性腫瘍を含む癌の腫瘍化に関与するセリン/スレオニンキナーゼである。また、一部の造血器悪性腫瘍では予後との関連が報告されている。ATL における PIM の関与は今回我々が初めて報告した。ATL において AUY が有望な治療薬であること、そして PIM キナーゼが ATL の新たな治療標的である可能性が本研究で示された。