

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 坂本 洋

本研究は抗癌剤耐性機構、とりわけ抗癌剤が誘導するアポトーシス耐性機構を明らかにするために、ヒト白血病細胞 U937 と複数の抗癌剤に対してアポトーシス耐性となっている変異細胞株とを用いて、アポトーシス耐性を規定する遺伝子の同定を試みている。さらに、その分子を標的とした薬剤の有効性及び選択性について検討しており、下記の結果を得ている。

1. U937 細胞とその抗癌剤耐性変異細胞株 UK711 との両細胞間において、既知の耐性に関与する蛋白の発現レベルの変化は認められなかった。両細胞から mRNA を調製し、cDNA subtraction 法に従い、発現変化が認められる遺伝子のスクリーニングを行った。その結果、アポトーシス耐性細胞 UK711 で過剰発現している遺伝子として、解糖系における副生成物メチルグリオキサールを消去する酵素グリオキサラーゼ I (GLO1) 遺伝子を同定した。GLO1 酵素の活性亢進は薬剤耐性を示す複数の変異細胞株においても認められ、GLO1 は抗癌剤耐性化に関わる遺伝子の一つであることが示された。
2. GLO1 の機能を直接示すために、GLO1 をコードする cDNA をベクターに組み込み、これを Jurkat 細胞に導入し、過剰発現による影響を検討したところ、GLO1 を一過性に過剰発現させた細胞集団は空ベクターを導入したコントロールと比較して、ADM や VP-16 によって誘導されるアポトーシスに対して、有意に耐性を示し、薬剤処理後の caspase の活性化を抑制した。この結果から GLO1 が caspase 活性化過程よりも上流でアポトーシス経路を阻害し、抗癌剤によるアポトーシス耐性

に關与していることが示された。

3. GLO1 阻害剤 *S-p*-bromobenzylglutathione cyclopentyl diester (BBGC)と抗癌剤 VP-16 との併用は、BBGC の濃度依存的に抗腫瘍増強効果が認められた。特に、この効果は U937 細胞に比べ、GLO1 の過剰発現しているアポトーシス耐性変異細胞株 UK711 細胞で顕著に認められたことから、GLO1 阻害剤 BBGC は抗癌剤耐性を克服する効果的な薬剤の一つであることが示された。
4. 38 種のヒト固形癌細胞株において GLO1 の酵素活性を測定したところ、肺癌細胞で高頻度に高い GLO1 活性を示した。ヒト肺癌細胞株における GLO1 阻害剤 BBGC 単剤での抗腫瘍効果は GLO1 活性の高い細胞株ほど感受性が高く、アポトーシスを誘導しやすいことが示された。また、BBGC の誘導するアポトーシスは c-Jun N-terminal kinase 1 (JNK1)、p38 MAPK といった stress-activated protein kinase や caspase の活性化が關与していることが示された。
5. ヒト肺癌細胞 DMS-114 やヒト前立腺癌細胞 DU145 をヌードマウスに移植した Xenograft を作成し、*in vivo* での BBGC の抗腫瘍効果を検討したところ、コントロール投与群と比較して、BBGC を投与した群ではマウスに対して毒性を与えずに、有意に腫瘍増殖抑制効果が認められた。

以上、本論文は抗癌剤が誘導するアポトーシスの耐性因子として GLO1 を見出し、GLO1 阻害剤はその耐性を克服する効果的な薬剤であることを初めて明らかにした。さらに、GLO1 阻害剤の選択性、アポトーシス誘導機構及び動物実験による *in vivo* での有効性も明らかにした。本研究の成果は GLO1 分子を標的とした新たな癌化学療法の開発につながるものと期待され、興味ある知見を明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。