

論文審査の結果の要旨

氏名 岩崎 礼央

本論文は緑茶成分カテキンの慢性骨髄性白血病細胞に対する細胞障害活性を検討した論文である。

慢性骨髄性白血病(CML)の治療は、CML の癌遺伝子である Bcr-Abl を分子標的としたチロシンキナーゼ阻害剤 imatinib mesylate (商品名 Glivec) の開発により、劇的な変化を示した。本薬剤の開発以前は、大多数の患者が5から7年の間に急性転化を示し、種々の治療に抵抗性を示して死に至っていた。血液幹細胞移植が唯一治癒を望める治療法であったが、ドナーの問題と患者の年齢等で、適応に限界があった。しかし、現在では、大部分の患者で Glivec 服用により Bcr-Abl 陽性腫瘍細胞は検出不可能なレベルまで抑制され、「治癒」という概念が議論されるまでに至っている。一方、現在では Bcr-Abl kinase の ATP 結合ポケット領域の点突然変異に起因する Glivec に対する薬剤耐性が新たな問題となっている。薬剤耐性克服のために、新たに様々の Bcr-Abl 阻害剤の開発が進められているが、耐性克服には全く新たな視点での薬剤の開発も重要な視点である。

Epigallocatechin-gallate (EGCG)は緑茶成分に含まれる主要なカテキンの成分であり、がんの化学予防効果が注目される polyphenol である。近年、EGCG の抗腫瘍効果が注目されている。理由は、EGCG が種々の腫瘍細胞に対して選択的な細胞毒性を示す事であり、腫瘍細胞に対応する正常細胞に対しては細胞毒性を示さないとされている。従来、EGCG の抗腫瘍効果は、細胞周期停止、telomerase 活性の阻害、あるいはラミニン受容体 LR67 への結合を介する転移の抑制等によるものと報告されている。これら種々の抗腫瘍機構は最終的には共通のアポトーシスへとつながっている。しかしながら、筆者らの予備実験の結果では、形態学的に CML 細胞はアポトーシスとは異なる非典型的な形態を示した。これに基づいて、筆者らは、EGCG による CML 細胞の細胞死誘導のメカニズムを明らかにすることにした。さらに、恒常的活性化 Bcr-Abl キナーゼによる抗アポトーシス作用を示すと考えられる薬剤抵抗性 CML 細胞に対する有効性を含めて解析し、

細胞死誘導の分子機構と薬剤耐性 CML 細胞への有効性を検討した。

解析の結果、以下の事が明らかになった。1) CML 細胞株 K562 を EGCG で処理し、ミトコンドリア膜電位の DiOC6 での検出と Propidium iodide の染色を dual parameter flow cytometry で解析した結果、K562 を imatinib で処理した場合とは異なった細胞死が誘導されること。2) この細胞死に際しては caspase の活性化を示す分解産物は検出されないこと。3) この細胞死を、caspase 阻害剤 Z-VAD-FMK が抑制しないこと。4) EGCG で処理された K562 細胞を電子顕微鏡で観察すると、細胞質の空泡化等を伴う ATP 除去によって誘導されるネクロシスと同様の形態を示したこと。5) Glivec 耐性 K562 細胞は EGCG にたいして、親株と同様の感受性を示したこと。以上の結果から、EGCG は CML 細胞に、アポトーシスとは明確に異なる、caspase 非依存的なネクロシス様の細胞死を誘導すること、さらに、この細胞死経路の活性化が imatinib 耐性を示す CML 細胞に対しても有効であることを示した。多くの薬剤耐性腫瘍細胞においてはアポトーシス経路の機能不全が特徴である事から、EGCG のネクロシス様細胞死誘導機能は、多剤耐性白血病細胞や他の薬剤耐性腫瘍細胞における耐性克服の新たな可能性を示すものである。また、ネクロシス様の細胞死が周囲の組織や免疫反応へ与えるインパクトは、腫瘍学にとって興味深い検討課題であると考えられる。

なお、本論文の主要部分は、伊藤金次、石田 尚臣、浜之上 誠、足立 壮一、渡邊俊樹、佐藤 裕子との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。