

医研2011

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Potential mechanism of resistance to TRAIL-induced apoptosis in Burkitt's lymphoma

(バーキットリンパ腫における TRAIL 誘導性アポトーシス耐性機構)

氏名 田福宣治 

論文要旨

1. 研究の背景と目的

デスリガンドである TNF スーパーファミリーを用いて、癌細胞にアポトーシスを誘導する新規治療法が注目されている。しかし、癌細胞によっては TNF スーパーファミリーに感受性を有しないものもあり、感受性を規定する因子の探索は非常に重要である。Epstein-Barr ウイルス (EBV) 感染は B 細胞性腫瘍であるバークットリンパ腫 (BL) の発症に関与するが、BL の TNF スーパーファミリーに対する感受性規定因子に関しては、いまだ十分に解明されていない。本研究の目的は、BL 細胞株を用いて、① TNF スーパーファミリーに属する Apo2L/TRAIL および Fas 刺激に対する感受性を調べ、② EBV を含めた感受性を規定する因子を決定し、③ 耐性を克服する方策を提言することである。

2. 研究内容

4 株の BL 細胞株、BJAB、Ramos、Raji、Daudi

論文要旨

を用いた。前2株はEBV陰性、後2株はEBV陽性である。Apo2L/TRAILおよびFas刺激後の細胞生存率の低下とアポトーシス誘導を感受性の指標とした。Fas刺激感受性は細胞表面のFasの発現レベルと相関しており、EBV感染との関連はみられなかった。一方、Apo2L/TRAILの感受性に関しては、EBV陽性株は陰性株に比べて耐性であった。Apo2L/TRAILの受容体には、デスシグナルを伝達可能なDR4とDR5、そして伝達不能なDcR1とDcR2がある。しかし、これらの受容体の発現レベルで感受性の差を説明できなかった。デスシグナルを遮断する分子としてFLIPや活性化AKTが知られているが、これらの分子の発現や活性化も感受性を規定するものではなかった。さらにウェスタンブロットにてアポトーシス阻害蛋白質であるBclファミリーやIAPファミリーの発現も解析したが、Apo2L/TRAIL感受性との関連は認められなかった。EBVのトランスフォーミング蛋白質であるLMP-1は転写因子NF- κ Bを活性化して、発癌に積極的に関与す

論文要旨




ることが知られている。EBV陽性BL細胞株（RajiおよびDaudi）はLMP-1を発現しており、ゲルシフトアッセイにてNF- κ B（p50、p65、c-Rel、RelB）のDNA結合が観察された。さらにRajiおよびDaudiをプロテアソーム阻害薬であるLLnLやI κ B α リン酸化阻害薬であるBay11で処理すると、I κ B α 蛋白質の蓄積やリン酸化I κ B α 蛋白質の減少が認められ、NF- κ BのDNA結合の減弱が誘導された。このNF- κ B活性の阻害は上記細胞株にApo2L/TRAIL感受性の回復をもたらした。さらにRaji細胞においてはLLnLやBay11処理にてDR4発現の増強が認められた。

3. まとめ

EBV感染により誘導されるNF- κ B活性化が、BL細胞株のApo2L/TRAIL誘導アポトーシスに対する耐性機序に関与している。NF- κ B活性の阻害は、耐性の克服を可能にし、耐性解除の一因として、DR4の発現増強が示唆された。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 論文博	第 号	氏名	田 福 宣 治
論文審査委員	審査日	平成 18 年 1 月 31 日		
	主査教授	田中 勇 暎 		
	副査教授	山根 誠 久 		
	副査教授	岩 永 正 明 		
(論 文 題 目)				
Potential mechanism of resistance to TRAIL-induced apoptosis in Burkitt's lymphoma				
(論文審査結果の要旨)				
上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的				
<p>癌細胞にアポトーシスを誘導する新しい方法として、TNF ファミリー などによるデスレセプターを刺激する方法が注目されている。TRAIL レセプター (TRAIL-R) は Fas と類似のシグナル伝達経路を介してアポトーシスを誘導するが、腫瘍細胞に選択的にアポトーシスを誘導し、副作用の少ないことから、抗 TRAIL-R 抗体や可溶性 TRAIL の臨床試験が進んでいる。しかし、最近、in vitro にて TRAIL に耐性の腫瘍細胞が報告されるようになった。また、NK 細胞や細胞傷害性 T 細胞は TRAIL や Fas リガンドを介して、腫瘍細胞やウイルス感染細胞にアポトーシスを誘導することで、生体を防御している。そこで、ウイルス発がんにおける TRAIL や Fas 耐性の役割を明らかにし、TRAIL の臨床応用に際して問題となる耐性の克服を目指して、EB ウイルス (EBV) 陰性および陽性バーキットリンパ腫細胞株を用いて以下の解析を行なった。</p>				
2. 研究内容				
EBV 陰性バーキットリンパ腫細胞株 (BJAB、Ramos) および EBV 陽性バーキ				

ットリンパ腫細胞株 (Raji, Daudi) を用いて、可溶性 TRAIL あるいは抗 Fas 抗体刺激後の細胞生存率とアポトーシス陽性細胞の割合を指標に感受性を解析した。結果、EBV 感染と TRAIL 耐性に関連が認められた。一方、Fas 耐性に関しては EBV 感染との関連はなく、細胞表面上の Fas 発現と相関していた。TRAIL 耐性の機序を調べるために、TRAIL-R の発現を解析した。いずれの細胞株でもデコイレセプター (TRAIL-R3, R4) の発現は細胞表面にみられず、デスドメインを有する TRAIL-R1 の発現が Raji で低下していた。FADD と結合することで、TRAIL シグナルを阻害する FLIP の発現やアポトーシス誘導タンパク、アポトーシス阻害タンパクの発現は4株の TRAIL 感受性を規定するものではなかった。TRAIL シグナルを阻害する Akt の活性化もウェスタンブロットにて検討したが、規定因子ではなかった。EBV はトランスフォーミングタンパク LMP-1 を介して NF- κ B を活性化する。EBV 陽性細胞株は LMP-1 を発現しており、ゲルシフトアッセイにて、p50、p65、c-Rel、RelB から成る NF- κ B 複合体の DNA 結合が観察された。プロテアソーム阻害薬や I κ B α リン酸化阻害薬で EBV 陽性細胞株を処理すると、NF- κ B 活性が阻害され、TRAIL に対する感受性が回復した。また、薬剤添加後に Raji 細胞において TRAIL-R1 の発現増加が認められた。これらの結果より、EBV 感染により誘導される NF- κ B 活性化が、パーキットリンパ腫細胞の TRAIL 刺激アポトーシスの抵抗性に関与していることが示唆され、耐性解除の一因として TRAIL-R1 の発現増強が示唆された。

3. 研究成果の意義と学術水準

本研究はパーキットリンパ腫細胞株における TRAIL および Fas 刺激アポトーシス抵抗性のメカニズムを解明し、発がんにおける EBV 感染の重要性と TRAIL の臨床応用において耐性腫瘍に対して NF- κ B 阻害剤が有効な補助薬となりうる事を示したもので、国際的にも高く評価されるものであると判断される。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書きとすること。
 - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。