

B細胞腫瘍に対する新規併用化学療法の基礎的検討

国立病院機構名古屋医療センター

臨床研究センター 流動研究員 萩原 和美

【研究の背景・目的】

近年 B 細胞腫瘍の分子病態の解明が進み、新たな分子標的薬や治療法が開発されている。DNA アルキル化剤 Bendamustine は、単剤またはリツキシマブとの併用による高い抗腫瘍効果がすでに報告されている。また B 細胞抗原受容体 (BCR) を介したシグナル伝達経路は、B 細胞腫瘍細胞における恒常的活性化がみとめられ、BCR シグナル経路上の分子を標的とする阻害剤の開発が進められている。本研究では、これら 2 つの薬剤に着目し、Bendamustine と BCR シグナル伝達経路阻害剤併用法の殺細胞効果を検討し、その有効性の評価と細胞死の分子メカニズムの解析を行った。昨年度までの研究において、いくつかの BCR シグナル伝達経路阻害剤を用いて Bendamustine との併用効果を検討したところ、Bruton's tyrosine kinase (Btk)阻害剤 PCI-32765 を併用すると、相乗的な増殖抑制効果を示し、Caspase-3 を介したアポトーシスが誘導されることを見出した。

【結果・考察】

昨年度に引き続き、マントル細胞リンパ腫細胞株 Jeko-1 を用いて実験を行った。Bendamustine + PCI-32765 併用処理においてリン酸化 Akt の発現減少が顕著であったことから、Akt の下流標的と考えられるいくつかの遺伝子発現を検討したところ、併用処理において Caspase-9 分解産物の発現が増加しており (Figure 1)、Caspase-9 活性化が示唆された。Caspase-9 は、アポトーシスを開始する initiator caspase の一つであり、Akt によってリン酸化されると不活性化され、アポトーシスは抑制される。よって、Bendamustine + PCI-32765 併用処理により Akt リン酸化が抑制され、リン酸化 Caspase-9 (不活性化型) が減少し、活性化による分解産物の増加につながったと考えられる。

またマントル細胞リンパ腫に特徴的に過剰発現する Cyclin D1 も、併用処理により強く発現抑制されていた (Figure 1)。Cyclin D1 は細胞周期制御因子であり、Cyclin D1 の発現低下は細胞周期の停止を引き起こし、増殖抑制につながると考えられる。これを確認するため、現在フローサイトメトリーによる細胞周期解析を行っている。

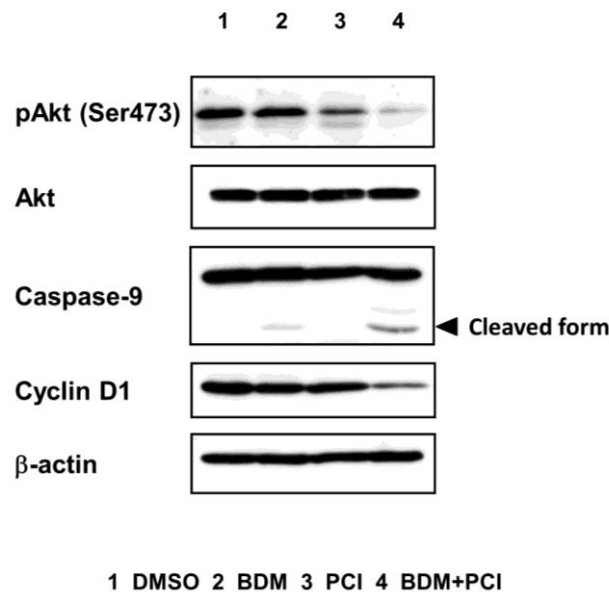


Figure 1 Western Blottingによる蛋白発現解析

さらに Bendamustine の併用が PCI-32765 耐性克服に有効であるか検討するため、Btk 下流の CARD11、MYD88 遺伝子に変異があり PCI-32765 に耐性と報告されている Ly-3 細胞¹を用いて、まず PCI-32765 単剤による殺細胞効果を MTT assay により解析した。我々の実験では、PCI-32765 は濃度依存的に Ly-3 細胞の増殖を抑制し、耐性は示されなかった。よって、PCI-32765 耐性と考えられる他の細胞株の検索および入手、または PCI-32765 耐性細胞株の樹立を現在検討しており、これを用いて Bendamustine + PCI-32765 併用処理の効果をさらに解析する予定である。

【参考文献】

¹Davis RE, Ngo VN, Lenz G, Tolar P, Young RM, Romesser PB, Kohlhammer H, Lamy L, Zhao H, Yang Y, Xu W, Shaffer AL, Wright G, Xiao W, Powell J, Jiang JK, Thomas CJ, Rosenwald A, Ott G, Muller-Hermelink HK, Gascoyne RD, Connors JM, Johnson NA, Rimsza LM, Campo E, Jaffe ES, Wilson WH, Delabie J, Smeland EB, Fisher RI, Braziel RM, Tubbs RR, Cook JR, Weisenburger DD, Chan WC, Pierce SK, Staudt LM. : Chronic active B-cell-receptor signaling in diffuse large B-cell lymphoma. Nature. 2010 Jan 7; 463(7277):88-92