

慢性骨髄性白血病細胞に対する中鎖脂肪酸誘導体の
抗がん作用とエネルギー代謝

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2016-07-11 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 篠原, 悠 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/54543

氏名（本籍）	篠原 悠（長野県）
学位の種類	博士（薬科学）
学位授与番号	甲第 30 号
学位授与日付	平成 28 年 3 月 25 日
専攻	創薬科学専攻
学位論文題目	慢性骨髄性白血病細胞に対する中鎖脂肪酸誘導体の抗がん作用とエネルギー代謝 (Anti-cancer effects of medium-chain fatty-acid derivative through perturbation of energy metabolism in chronic myeloid leukemia)
学位論文審査委員	(主査) 教授 北 出 幸 夫 (副査) 教授 稲 垣 直 樹 (副査) 教授 上 田 浩 (副査) 教授 赤 尾 幸 博

論文内容の要旨

ヒトゲノム計画終了後、がんに対する創薬はドライバー遺伝子産物に対する分子標的薬がトレンドとなった。その典型的な薬剤の1つが慢性骨髄性白血病（CML）に対するイマチニブである。CMLはt(9;22)転座によって生じるフィラデルフィア（Ph）染色体を有し、この転座染色体上のキメラ遺伝子BCR-ABLの転写産物が示す恒常的なチロシンキナーゼ活性により、下流の増殖関連シグナルが活性化される。イマチニブを始めとしたチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）は、BCR-ABLのATP結合部位を阻害し基質のリン酸化を抑制する薬剤であり、CMLおよびPh陽性リンパ性白血病（ALL）の治療成績を劇的に改善させた。しかしながら、TKI抵抗性の白血病幹細胞が残存し再発の原因となることから根治は難しく、幹細胞にも有効な新しい治療法の開発が求められている。本研究では、ヒトCML細胞株に対する有効性が示唆された中鎖脂肪酸誘導体(E)-1-(azocan-1-yl)dec-3-en-1-one（AIC-47）に関して作用機序を究明し、イマチニブとの相違点をエネルギー代謝という観点から比較検討することで、新規治療薬としての有用性を検討した。まず、AIC-47およびイマチニブのBCR-ABLに対する効果を検証した。イマチニブの作用点がBCR-ABLのリン酸化抑制であるのに対し、AIC-47はBCR-ABLの転写を阻害するという新たな作用点を有することを見出した。

がん細胞は好氣的条件下においても嫌氣的解糖を積極的に使用することが知られている。この特徴的な機構は「Warburg効果」と呼ばれており、Pyruvate kinase M（PKM）の2つのアイソフォームの発現バランスとそのスプライサーであるPolypyrimidine tract-binding protein 1（PTBP1）の発現によって制御されている。AIC-47およびイマチニブはPTBP1の発現低下とPKM2からPKM1へのスイッチングを誘導した。イマチニブはPTBP1をターゲットとするmiRNA-124の発現を増加させ、PTBP1/PKMカスケードの破綻を誘導することが示唆された。また、BCR-ABLの発現低下もWarburg効果の破綻の一因となることを明らかにした。さらに、イマチニブによるWarburg効果の破綻は代償的な脂肪酸酸化（ β 酸化）の活性化を誘導するのにに対しAIC-47はその代償機構を抑制した。イマチニブ抵抗性を示すPh陽性ALLのCD34+分画に対してもAIC-47は増殖抑制を示した。CD34+分画においても両薬剤によるPTBP1/PKMカスケードの破綻が確認さ

れたが、イマチニブを作用させた細胞のみで脂肪酸酸化の活性化が観察されたことから、幹細胞様の性質を持つCD34+分画におけるイマチニブ抵抗性の獲得には脂肪酸酸化の活性化が関与しており、脂肪酸酸化の阻害により治療抵抗性が解除される可能性が示唆された。

以上の結果から、AIC-47はがん細胞の解糖系のみならず脂肪酸酸化も同時に阻害することで、白血病幹細胞にも有効な新規治療薬のリード化合物となる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

ヒトゲノム計画終了後、がんに対する創薬はドライバー遺伝子産物に対する分子標的薬がトレンドとなった。その典型的な薬剤の1つが慢性骨髄性白血病（CML）に対するイマチニブである。CMLではt(9;22)転座によるフィラデルフィア（Ph）染色体を有し、この転座染色体由来のキメラ遺伝子BCR-ABL産物（チロシンキナーゼ活性）の恒常的な発現により下流の増殖関連シグナルが活性化される。イマチニブを始めとしたチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）は、BCR-ABLのATP結合部位を阻害し基質のリン酸化を抑制する薬剤であり、CMLおよびPh陽性リンパ性白血病（ALL）の治療成績を劇的に改善させた。しかしながら、TKI抵抗性の白血病幹細胞が残存し再発の原因となることから根治は難しく、幹細胞にも有効な新しい治療法の開発が求められている。本研究では、ヒトCML細胞株に対する有効性が示唆された中鎖脂肪酸誘導体(E)-1-(azocan-1-yl)dec-3-en-1-one（AIC-47）に関して作用機序を究明し、イマチニブとの相違点をエネルギー代謝という観点から比較検討することで、新規治療薬としての有用性を検討した。

まず、AIC-47およびイマチニブのBCR-ABLに対する効果を検証した。イマチニブの作用点がBCR-ABLのリン酸化抑制であるのに対し、AIC-47はBCR-ABLの転写を阻害するという新たな作用点を有することを見出した。

がん細胞は好氣的条件下においても嫌氣的解糖を積極的に使用することが知られている。この特徴的な機構は「Warburg効果」と呼ばれており、Pyruvate kinase M（PKM）の2つのアイソフォームの発現バランスとそのスプライサーであるPolypyrimidine tract-binding protein 1（PTBP1）の発現によって制御されている。AIC-47およびイマチニブはPTBP1の発現低下とPKM2からPKM1へのスイッチングを誘導した。イマチニブはPTBP1をターゲットとするmiRNA-124の発現を増加させ、PTBP1/PKMカスケードの破綻を誘導することが示唆された。また、BCR-ABLの発現低下もWarburg効果の破綻の一因となることを明らかにした。さらに、イマチニブによるWarburg効果の破綻は代償的な脂肪酸酸化（ β 酸化）の活性化を誘導するのに対しAIC-47はその代償機構を抑制した。イマチニブ抵抗性を示すPh陽性ALLのCD34+分画に対してもAIC-47は増殖抑制を示した。CD34+分画においても両薬剤によるPTBP1/PKMカスケードの破綻が確認されたが、イマチニブを作用させた細胞のみで脂肪酸酸化の活性化が観察されたことから、幹細胞様の性質を持つCD34+分画におけるイマチニブ抵抗性の獲得には脂肪酸酸化の活性化が関与しており、脂肪酸酸化の阻害により治療抵抗性が解除される可能性が示唆された。

以上の結果から、AIC-47はWarburg効果のみならず脂肪酸酸化（糖新生）も同時に阻害するがん細胞に特異的なエネルギー代謝を標的にした新規治療薬のリード化合物となる可能性が示唆された。この論文を学位論文に値するものと判定した。

最終試験結果の要旨

学位論文の主要部分は、審査付き論文として公表済みの3編の論文(1, 2, 3)である。この論文が学位論文として完成された内容を有することを確認した。

公聴会において、中鎖脂肪酸誘導体の抗がん活性について慢性骨髄性白血病のキメラ遺伝子BCR/ABLに対する作用、さらに分子標的薬イマチニブとの比較研究を通じてその作用機序を明らかにした。本研究の内容、今後の展開や将来性などに関して諮問を行った。論文申請者から十分な内容を持った回答が得られたので、最終試験にも合格したと判定した。

論文リスト

1. Perturbation of energy metabolism by fatty-acid derivative AIC-47 and imatinib in BCR-ABL-harboring leukemic cells.

Shinohara H, Kumazaki M, Minami Y, Ito Y, Sugito N, Kuranaga Y, Taniguchi K, Yamada N, Otsuki Y, Naoe T, Akao Y

Cancer Letters, 371(1)1-11(2016) (IF=5.621)

2. Anti-cancer fatty-acid derivative induces autophagic cell death through modulation of PKM isoform expression profile mediated by bcr-abl in chronic myeloid leukemia.

Shinohara H, Taniguchi K, Kumazaki M, Yamada N, Ito Y, Otsuki Y, Uno B, Hayakawa F, Minami Y, Naoe T, Akao Y

Cancer Letters, 360(1)28-38(2015) (IF=5.621)

3. MicroRNA-124 inhibits cancer cell growth through PTB1/PKM1/PKM2 feedback cascade in colorectal cancer.

Taniguchi K, Sugito N, Kumazaki M, Shinohara H, Yamada N, Nakagawa Y, Ito Y, Otsuki Y, Uno B, Uchiyama K, Akao Y

Cancer Letters, 363(1)17-27(2015) (IF=5.621)