

氏名(生年月日)	大 津 千 晴
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第2300号
学位授与の日付	平成17年1月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	ヒト未分化大細胞性リンパ腫由来 Ki-JK 細胞に対する CD30 の抗アポトーシス作用
主論文公表誌	東京女子医科大学雑誌 第74巻 第8号 339-349頁 2004年
論文審査委員	(主査) 教授 泉二登志子 (副査) 教授 江崎 太一, 川上 順子

論文内容の要旨

〔目的〕

未分化大細胞リンパ腫(anaplastic large cell lymphoma: ALCL)はCD30抗原を強発現しており, キナーゼ活性を持つキメラ蛋白 nucleophosmin (NPM)/anaplastic lymphoma kinase (ALK) が, 約50%に陽性である。

本研究で, 抗CD30抗体(anti-CD30 antibody: aCD30Ab), プロテインキナーゼ阻害剤のALCLに対する作用, また併用効果をNPM/ALK陽性ALCL細胞株Ki-JKで検討した。

〔対象および方法〕

ALCL患者から樹立された, CD30陽性, p80^{NPM/ALK}を発現している細胞株Ki-JKを使用した。プロテインキナーゼ阻害剤は, ML-9, H-7, A-3, sphingosineを使用した。細胞生存率はエリスロシン取り込み法で測定し, アポトーシスはNELF(Nick end labelling for flow cytometry)法, DNA断片化で検討した。培養上清中IL-8をELISA(enzyme-linked immunosorbent assay protein)法で測定した。bcl-2の発現, NF- κ Bの発現をフローサイトメーターで測定した。NPM/ALKの発現を免疫染色で検討した。

〔結果〕

aCD30Abは検討した全てのプロテインキナーゼ阻害剤単独培養細胞でアポトーシスを誘導した。ML-9培養細胞で, NPM/ALKの弱い抑制が認められた。プロテインキナーゼ阻害剤, aCD30Ab添加培養細胞で, ML-9によるアポトーシスがaCD30Abで有意に阻害され, 培養細胞上清中にIL-8を認めた。またML-9, aCD30Ab, IL-8 antisense oligonucleotide添加培養細胞で, aCD30Abのアポトーシス抑制はキャンセルされ, アポトーシスが誘導された。IL-8単独刺激でbcl-2発現亢進を認めた。NF- κ Bについては, aCD30Ab単独添加でNF- κ B発現亢進が認められた。さらにaCD30Abの抗アポトーシス作用は, NF- κ B antisense oligonucleotideで抑制され, 培養細胞上清中にIL-8産生が認められなかった。

〔考察〕

aCD30Abにアポトーシス誘導と, アポトーシス抑制の二つの作用が認められた。ML-9で誘導されるアポトーシスが, aCD30Abで抑制されることより, ML-9でNPM/ALKが抑制され, NF- κ Bが活性化され抗アポトーシス作用が誘導されると考えられた。またCD30刺激により活性化されるNF- κ Bを介してIL-8が産生され, IL-8がbcl-2を活性化し抗アポトーシスを誘導することが示唆された。

本研究において, Ki-JK細胞で, aCD30AbによるCD30単独刺激により誘導されるアポトーシスについては, CD30刺激でNF- κ Bが活性化されること, NPM/ALKが刺激されない(データ示さず)ことより, CD30-CD30L機序, TNF-TNFR系の関与が予想された。アポトーシス, 抗アポトーシス, 二つの作用にはNPM/ALKが深く関与していることが示唆された。

〔結論〕

CD30 陽性の ALCL 細胞株に対し aCD30Ab がアポトーシスと抗アポトーシス作用を誘導することを示した。NF- κ B 活性化により IL-8 が産生され, IL-8 により bcl-2 が活性化され, 抗アポトーシス作用が誘導されることを示した。また ML-9 はアポトーシスを誘導した。ML-9 によるアポトーシス誘導に, NPM/ALK 抑制が関与している可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 要 旨

未分化大細胞リンパ腫患者から樹立された細胞株を用いて, 抗 CD30 抗体とプロテインキナーゼ (PK) 阻害剤の作用を検討した。

ML-9 などの PK 阻害剤を細胞株に添加するとアポトーシスが生じた。抗 CD30 抗体添加時にもアポトーシスが生じたが, 抗 CD30 抗体と共に ML-9 を添加した時には抗アポトーシス作用をも有していた。この抗アポトーシス作用は細胞培養上清へのインターロイキン 8 (IL-8) 分泌によることが確認された。また抗 CD30 抗体添加により時間依存性に NF- κ B の発現が増強しており, これが抗アポトーシス作用を引き起こすことが確認された。抗 CD30 抗体と ML-9 を併用添加時の抗アポトーシス作用は, 抗 CD30 抗体が NF- κ B を活性化することによって生じること, その際に IL-8 が産生され, IL-8 が bcl-2 を活性化し引き起こされることが示唆された。

抗 CD30 抗体療法は特異的な治療法として期待されるが, ML-9 のような PK 阻害剤と併用すると抗アポトーシス作用を誘導するため更なる検討が必要と考えられた。