



Title	Constitutive Active FGFR3 with Lys650Glu Mutation Enhances the Bortezomib Sensitivity in Plasma Cell Malignancy
Author(s)	大塚, 正恭
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58128
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【70】

氏 名	おお 塚 まさ 泰
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 3 9 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Constitutive Active FGFR3 with Lys650Glu Mutation Enhances the Bortezomib Sensitivity in Plasma Cell Malignancy (恒常活性化変異FGFR3 Lys650Gluは形質細胞腫瘍のボルテゾミブ感受性を増強する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 金 倉 譲 (副査) 教 授 野口眞三郎 教 授 下村伊一郎

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブは、多発性骨髄腫に対して極めて有用な薬剤であるが、その作用機序は完全には明らかになっていない。一方ボルテゾミブは、これまで予後不良とされてきた染色体異常 t (4;14) をもつ骨髄腫患者に対しても有効であることが明らかにされつつある。t (4;14) は線維芽細胞増殖因子受容体3 (*FGFR3*) 遺伝子の異所性発現を生じさせるが、このFGFR3の発現は細胞死の抑制や増殖促進に結びつくと考えられている。更に、t (4;14) 陽性骨髄腫の一部の進行例では、FGFR3の活性化変異が認められる。そこで今回は、FGFR3 (野生型、変異型) の発現が、形質細胞腫瘍のボルテゾミブ感受性に与える影響とその機序を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

形質細胞腫細胞株FR4及び骨髄腫細胞株RPMI8226に*FGFR3*遺伝子 (野生型、Lys650Glu変異、Tyr373Cys変異) を導入した。各細胞株の免疫染色での解析により、野生型またはTyr373Cys変異FGFR3は細胞表面に発現し主として細胞膜上で活性化を示すことに対して、Lys650Glu変異FGFR3は細胞内の小胞体に局在すると

共に同部において恒常的活性化を示し特異的活性化形態を示した。

次にこれらの細胞のFGFリガンド存在下におけるボルテゾミブ感受性をAnnexin V assay法を用いて検討した。その結果、FR4細胞にメルファランやデキサメサゾンの投与、あるいは放射線照射を行った場合は各細胞間に毒性の差はみられなかったが、ボルテゾミブを投与した場合は、FGFR3 Lys650Glu発現細胞においてその作用が増強していた。同様に、RPMI8226細胞に放射線照射を行った場合は各細胞の細胞死に差を認めなかったが、ボルテゾミブを投与した場合は、やはりFGFR3 Lys650Glu発現細胞においてその作用が増強する傾向を認めた。

ボルテゾミブはNF- κ B阻害剤として開発されたが、近年、その主たる作用機序として小胞体ストレスの関与が指摘されている。そこで、ボルテゾミブの投与が小胞体ストレス蛋白の誘導へ及ぼす影響を、FGFR3導入FR4細胞を用いてreal time PCR法で調べたところ、FGFR3 Lys650Glu発現細胞において、BiP、Edem1及びCHOPの誘導が強くなっていた。またRPMI8226細胞においても、ボルテゾミブ投与により、FGFR3 Lys650Glu発現細胞においてCHOPの誘導がより強くなる傾向が認められた。

さらに、FGFR3導入FR4細胞にglycosylation阻害剤であるtunicamycinを加えて小胞体ストレスを負荷したところ、各細胞ともボルテゾミブ感受性が増強し、同等の細胞死を示した。一方で、蛋白合成阻害剤であるcycloheximideを加えて小胞体ストレスを軽減させたところ、Lys650Glu発現によるボルテゾミブ感受性増加がうち消され、各細胞ともボルテゾミブ感受性の低下を認めた。

〔 総 括 〕

今回の研究で、ボルテゾミブはLys650Glu変異FGFR3発現形質細胞腫瘍に特に有効であり、その細胞毒性の増強は小胞体ストレス依存性であることが示唆された。またその小胞体ストレスの増強は、Lys650Glu変異FGFR3が小胞体において異所性に活性化を示すことと関連している可能性が考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブは、多発性骨髄腫に対して極めて有用な薬剤であるが、その作用機序は完全には明らかになっていない。一方ボルテゾミブは、これまで予後不良とされてきた染色体異常t (4;14) をもつ骨髄腫患者に対しても有効であることが明らかにされつつある。t (4;14) は線維芽細胞増殖因子受容体3 (*FGFR3*) 遺伝子の異所性発現を生じさせるが、このFGFR3 (野生型、変異型) の発現が、形質細胞腫瘍のボルテゾミブ感受性に与える影響とその機序を検討した。形質細胞腫細胞株FR4及び骨髄腫細胞株RPMI8226に*FGFR3*遺伝子 (野生型、Lys650Glu変異、Tyr373Cys変異) を導入し、これらの細胞のボルテゾミブ感受性を検討したところ、FGFR3 Lys650Glu発現細胞においてボルテゾミブの作用が増強し、また小胞体ストレス蛋白 (BiP, Edem1, CHOP) が強く誘導されていた。このことから、ボルテゾミブはLys650Glu変異FGFR3発現形質細胞腫瘍に特に有効であり、その細胞毒性の増強は小胞体ストレス依存性である可能性が示唆された。本論文は、以上の内容を報告するものであり、学位の授与に値すると考えられる。