The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	急性骨髄性白血病，及びその治療合併症に対する新規介入法の研究
Author(s)	田嶋，信行
Citation	大阪大学，2011，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59418
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

【22】

氏　　名	田嶋信行（たじまのぶゆき）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬学）
学 位 記 番 号	第　２４８６２　号
学位授与年月日	平成23年８月２日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学 位 論 文 名	**急性骨髄性白血病，及びその治療合併症に対する新規介入法の研究**
論文審査委員	（主査） 教 授 堤　康央 （副査） 教 授 藤尾　慈　教 授 辻川 和丈　教 授 小比賀 聡

論 文 内 容 の 要 旨

細胞障害性白血病治療薬による化学療法，及び骨髄移植法の進歩は，急性骨髄性白血病（acute myelogenous leukemia：AML）の治療において一定の成果をもたらした。しかし，これらAMLの標準療法には依然大きな課題が残されている。現在の化学療法は成人患者の6-8割を完全緩解に導入できるが，再発率が高く，５年生存率は3-4割にとどまる。高齢AML

患者の治療状況はさらに悪く，化学療法に伴う高度侵襲を許容できない症例も多い。従って，再発の危険性が低く安全な新規治療法の開発努力が続けられている。一方，再発リスクが高いと考えられる患者や再発例に対しては，完全緩解導入の後，骨髄移植が施行される。骨髄移植は化学療法に置き換わりうる唯一の治療法であるが，主要な合併症である移植片対宿主病（graft versus host disease：GVHD）の克服が大きな課題となっている。ドナーT細胞を除去すればGVHDの発症を抑制できるが，同時に移植片対白血病（graft versus leukemia：GVL）作用も失われてしまうため，AML再発のリスクが高まる。従ってGVHDを抑制しつつ，GVL作用を残す治療法が求められている。

このようなAML治療の現状に鑑み，本研究ではまずミエロイド系細胞に選択的なサイトカイン産生抑制活性を有する化合物を用いて，従来の細胞傷害性AML治療薬とは異なる，AML細胞の特性に着目したより安全性の高い新規治療法の可能性を検討した。次に，T細胞活性化にかかわる共刺激因子Activation-inducible lymphocyte immunomediatory molecule（AILIM。別名inducible costimulator，ICOS）の機能解析を通じて，その阻害が新規GVHD治療となる可能性を検討した。

炎症性サイトカインと増殖因子は，オートクライン／パラクラインの両機序でAML細胞の増殖，生存を促進し，血管新生を含むAMLの病態形成に重要な役割を担っていると考えられる。JTE-607はlipopolysaccharide（LPS）で刺激されたヒト末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell：PBMC）の各種炎症性サイトカイン産生を強力に抑制する低分子化合物であり，その作用はミエロイド系細胞に選択的という特徴がある。著者らはまず，JTE-607がヒトAML細胞株U-937の増殖を抑制し，同細胞移植マウス白血病モデルにおける持続投与で延命効果を発揮することを見出した。続いて著者は本研究において，AML細胞株に対するJTE-607の作用についてより詳細な検討を行い，JTE-607が各種ヒトAML細胞株の増殖を，炎症性サイトカイン／増殖因子産生の低下を伴って抑制することを確認した。分子レベルでの解析の結果，増殖抑制作用は$p21^{waf1/cip1}$の発現上昇，c-Mycの発現低下を伴い，細胞周期をS期にアレストさせるものであった。また，JTE-607によるアポトーシスは活性酸素分子種（reactive oxygen species：ROS）消去剤で抑制された。これらの結果から，JTE-607は細胞増殖シグナルの阻害により，$p21^{waf1/cip1}$発現上昇を介してDNA複製を停止させると共に，ROSによるDNA傷害を惹起し，AML細胞をS期アレスト，アポトーシスに誘導すると考えられた。さらに，U-937細胞移植マウス白血病モデルにおいて，JTE-607はU-937細胞由来のサイトカイン／増殖因子の発現を抑制した。以上の結果はJTE-607のAML治療における有用性を示唆するとともに，AML細胞の特性（サイトカイン／増殖シグナル依存性）を標的とした新規且つ安全なAML治療法の一つの方向性を示すものと考えられた。

次に，新規なGVHD治療法としてのT細胞共刺激因子AILIM阻害の可能性を検討した。AILIMはCD28と同じファミリーに属するT細胞共刺激分子の1つであり，活性化T細胞上に発現してB7.1／7.2類縁蛋白のB7hと結合し，T細胞の機能を制御する。これまで，AILIMの機能は主にマウスを用いて検討されてきた。しかしながら多くの免疫関連分子の機能には種差のあることが知られており，創薬標的としての可能性を考察する上で最も重要なヒトAILIMの機能はこれまで十分に明らかとされていなかった。そこで本研究では，完全ヒト型抗ヒトAILIM抗体JTA-009を創製し，その薬効薬理試験を通じてヒトAILIMのT細胞機能発現における役割を，CD28と比較しつつ解析した。まずアロ抗原刺激ヒト／サルT細胞活性化におけるJTA-009（AILIM阻害），CTLA4-Ig（CD28阻害）の効果を検討した結果，ヒトT細胞に対しJTA-009はCTLA4-Igと比較し得る抑制作用を示した。しかしながら，その抑制パターンはCTLA4-Igと異なるものであり，またサルT細胞ではCTLA4-Igがより効果的であることを明らかにした。これらの違いには，CD8陽性T細胞機能におけるAILIMとCD28の寄与度の差異が原因している可能性が考えられた。また，主にTh2型サイトカイン産生を制御するとされるマウスAILIMと異なり，ヒトAILIMはCD28と同様にTh1，Th2両タイプのメモリーT細胞の抗原刺激サイトカイン産生に関与することを明らかにした。次に免疫不全マウスにヒトPBMCを移植するhu-PBMC-SCID GVHDモデルにおいて，マウス臓器に浸潤したヒトT細胞がAILIMを発現することを確認した後，本モデルにおけるJTA-009の効果を検討した。その結果，JTA-009投与によって各臓器へのヒト細胞の浸潤が抑制され，マウスの生存が延長されるなど，抗ヒトAILIM抗体JTA-009のGVHD治療における有用性を示唆する知見を得た。また，JTA-009の病態抑制作用はCTLA4-Ig投与で得られる効果と異なり，その差異はin vitroでのアロ抗原刺激T細胞活性化におけるAILIM阻害とCD28阻害の違い，より詳細にはヒトCD8陽性T細胞機能におけるAILIMとCD28の寄与度の違いに一致することを見出した。以上の結果より，AILIMは炎症局所に発現するB7hとの結合により，主としてCD4(+)T細胞の活性化を介して急性期GVHDの病態形成に関与することが示唆された。このことは，AILIM阻害により従来の免疫抑制剤とは異なる，GVHD標的臓器特異的な免疫抑制効果が得られる可能性を示し，患者の症状に応じた治療オプションの拡充につながるものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

現在のAML治療の柱である化学療法と骨髄移植は、それぞれ高い再発率と低い安全性、合併症発症の問題を抱えており、その解決が望まれている。本研究ではこれらの課題を克服しうる新規介入法を検討し、以下の知見・結論を得た。

① AML細胞のサイトカイン/増殖シグナル依存性を標的とした介入が、ミエロイド細胞に選択的なサイトカイン産生抑制、増殖抑制作用を通じて、新規且つ安全なAML治療法となる可能性を提示した。即ち、JTE-607はAML細胞のサイトカイン産生、増殖を抑制する一方で、正常骨髄細胞に対する増殖抑制作用は弱く、既存抗白血病薬に比較してAML細胞に対する特異性が高いことを示した。加えて、JTE-607は正常造血に必須な骨髄支持細胞のサイトカイン産生を抑制しないことから、AML細胞抑制と正常造血維持を両立できる可能性が考えられた。

② T細胞共刺激分子AILIMがヒトT細胞のTh1、Th2 両タイプの抗原刺激応答、並びにアロ抗原刺激応答において役割を担うことを明らかにし、AILIM-B7h経路の阻害によりCD28-B7.1/B7.2経路の阻害と比較し得るT細胞機能抑制効果が期待できることを示した。また、実施例として完全ヒト型抗AILIM抗体JTA-009がGVHD治療において有用である可能性を提示した。

以上の知見・成果は、AMLに対する新しい薬物治療の在り方、及びその治療合併症に対する新規アプローチに理論的根拠を与えるものであり、またこれら新規介入法に基づく薬剤開発において、AML細胞、ヒトAILIMそれぞれの特性理解に即した臨床応用を可能にするものであると考えられ、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考えられる。