

解禁日時:平成 29 年 3 月 28 日(火)午前 0 時(日本時間)

## プレス通知資料 (研究成果)



国立大学法人  
東京医科歯科大学



国立大学法人  
浜松医科大学

報道関係各位

平成 29 年 3 月 24 日

国立大学法人 東京医科歯科大学

国立大学法人 浜松医科大学

### 急性リンパ性白血病におけるL-アスパラギナーゼ投与時のオートファジー作用の解明 — オートファジーを標的とした急性リンパ性白血病に対する新規治療法への期待 —

#### 【ポイント】

- 急性リンパ性白血病に対して、L-アスパラギナーゼを用いた治療にオートファジー阻害薬のクロロキンを併用することで、その治療効果が増強された。
- その併用効果は、がん抑制蛋白 p53 を介したアポトーシス細胞死によるものであった。
- 今後、急性リンパ性白血病におけるオートファジーを標的とした新たな治療戦略の開発が期待されます。

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子細胞遺伝分野の井上純講師、稲澤譲治教授ならびに同・疾患バイオリソースセンターの高橋寛吉特任助教（現・浜松医大診療助教）らの研究グループは、急性リンパ性白血病においてオートファジーを阻害することで既存の抗がん薬 L-アスパラギナーゼの効果が増強することを同定しました。この研究成果は、文部科学省科学研究費補助金、文部科学省新学術領域研究「がんシステムの新次元俯瞰と攻略」、基盤研究 (C)「オートファジー活性を基盤とした新たな癌治療戦略の確立」の支援のもと遂行され国際科学雑誌 *Oncogene* (オンコジーン)に、2017 年 3 月 27 日午後 4 時 (英国時間)にオンライン版で発表されます。

#### 【研究の背景】

急性リンパ性白血病 (acute lymphoblastic leukemia; ALL) では、これまで数種類の抗がん薬を組み合わせた治療により治療成績の改善が図られてきました。しかしながら難治例や再発例においては長期生存の割合は 30~40%であり、依然として予後不良な疾患です。ALL 細胞が増えるためにはアスパラギンをはじめとするアミノ酸が必要ですが、ALL 治療薬の一つである L-アスパラギナーゼ (L-asparaginase; L-asp) はアスパラギンを枯渇させることで ALL 細胞を死滅させる薬剤であり、いわば ALL 細胞のみに兵糧攻めを行って効果を発揮する薬剤です。L-asp は 1970 年代から現在に至るまで世界中で ALL 治療のゴールドスタンダードとして利用されていますが、L-asp に対して低感受性の患者さんでは治療成績は不良であり、そのメカニズムの解明と克服が ALL 治療の大きな課題となっています。

オートファジーは細胞内の成分を分解するシステムの一つであり、主な役割として (1) アミノ酸欠乏時にオートファジーが活性化してアミノ酸を供給すること (アミノ酸供給)、(2) 傷害を受けたミトコンドリアなどの細胞内小器官を分解し正常な状態を保つこと (恒常性維持) の二つが知られています。現在がん細胞のオートファジー作用について様々な研究が行われていますが、ALL 細胞におけるオートファジーの役割は未解明なままでした。本研究では ALL 細胞株や ALL 患者さんの白血病細胞を用いるとともに ALL 細胞移植モデルマウスを確立し、L-asp 投与時のオートファジー機能や、L-asp とオートファジー阻害薬であるクロロキン (Chloroquine; CQ) を併用した際の細胞分子メカニズムの解明を行いました。

## 【研究成果の概要】

まず初めに、ALL 細胞株を用いて、L-asparaginase (L-asparaginase) 投与時にオートファジー活性が亢進していることを確認しました。L-asparaginase にオートファジー阻害薬 CQ (chloroquine) を併用で作用させると、ALL 細胞株および患者さんから抽出した ALL 細胞のいずれにおいても、L-asparaginase 単剤投与時に比べて死細胞の割合が増加しました。さらに ALL 移植モデルマウスを用いた治療実験では、L-asparaginase と CQ を併用した際にマウス体内の白血病細胞が増殖しにくくなり、生存期間も延長していました (図 1)。CQ はマラリアに対する治療薬として既に世界中で広く用いられている薬剤であるとともに本邦でも全身性エリテマトーデスの治療薬として使用されており、既存薬を全く別の疾患の薬として利用するドラッグ・リポジショニング (Drug Repositioning) として、今後 ALL においてもその効果が期待されます。

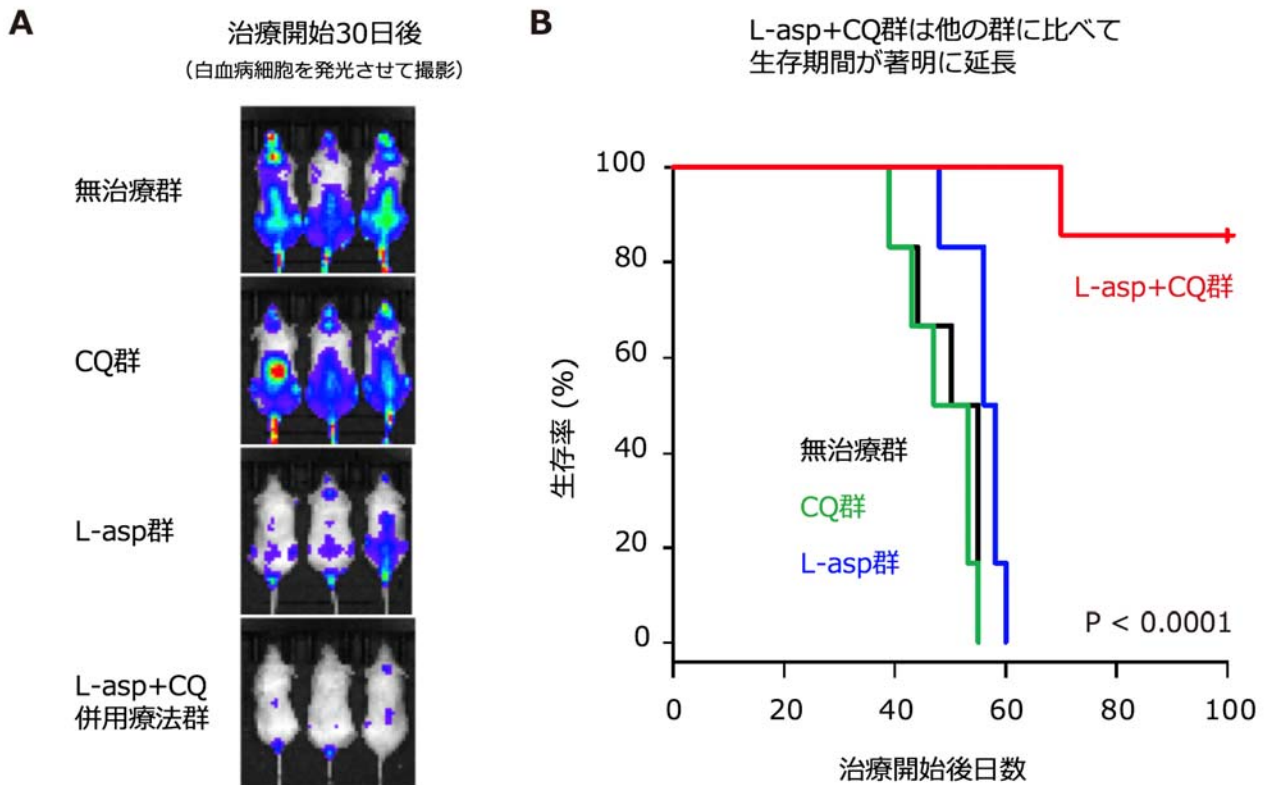


図1 L-アスパラギナーゼ (L-asparaginase) とクロロキン (CQ) の併用実験

A 急性リンパ性白血病モデルマウス体内の白血病細胞の検出 B 治療日数と生存割合

次に、L-asparaginase 投与時に亢進しているオートファジーがどのような働きをしているのか検討しました。当初の仮説では、オートファジーはアミノ酸を供給すること、すなわち兵糧攻めを回避することが主な役割だろうと考えていました。しかし実際に細胞内アミノ酸濃度を調べると、L-asparaginase 単剤投与時と L-asparaginase + CQ 併用投与時では細胞内アスパラギン濃度は全く変化しておらず、オートファジー活性がアミノ酸供給に働いているという証拠は得られませんでした。そこで、オートファジーが細胞内の恒常性維持に関与しているかどうかを調べるために、ミトコンドリア傷害を受けた細胞の有無を検出しました。すると L-asparaginase + CQ 併用投与時に傷害ミトコンドリアの割合が上昇しており、また傷害ミトコンドリアから産生される活性酸素も著しく蓄積していました。以上の結果から、L-asparaginase を投与した ALL 細胞では、オートファジーによって傷害ミトコンドリアが除去されることで活性酸素の発生が抑えられており、オートファジーが細胞保護的に働くことで L-asparaginase の効果を減弱させていることが明らかになりました。

次に、L-asparaginase と CQ を併用した際に誘導される細胞死のメカニズムを調べました。L-asparaginase + CQ 併用投与時には、過剰に蓄積した活性酸素によって DNA ダメージが起こり、次いでがん抑制蛋白 p53 の活性化が確認されました。この p53 がさらに活性酸素の発生を亢進させることで「活性酸素-p53 ループ」が形成され、最終的に p53 を介した強力なアポトーシス細胞死が誘導されることを明らかにしました (図 2)。

一方、遺伝子変異により p53 が正常に働かない ALL 細胞では L-asp と CQ の併用効果が認められず、L-asp とオートファジー阻害薬の併用効果が発揮されるには p53 遺伝子の機能が非常に重要な役割を果たしていることを明らかにしました。

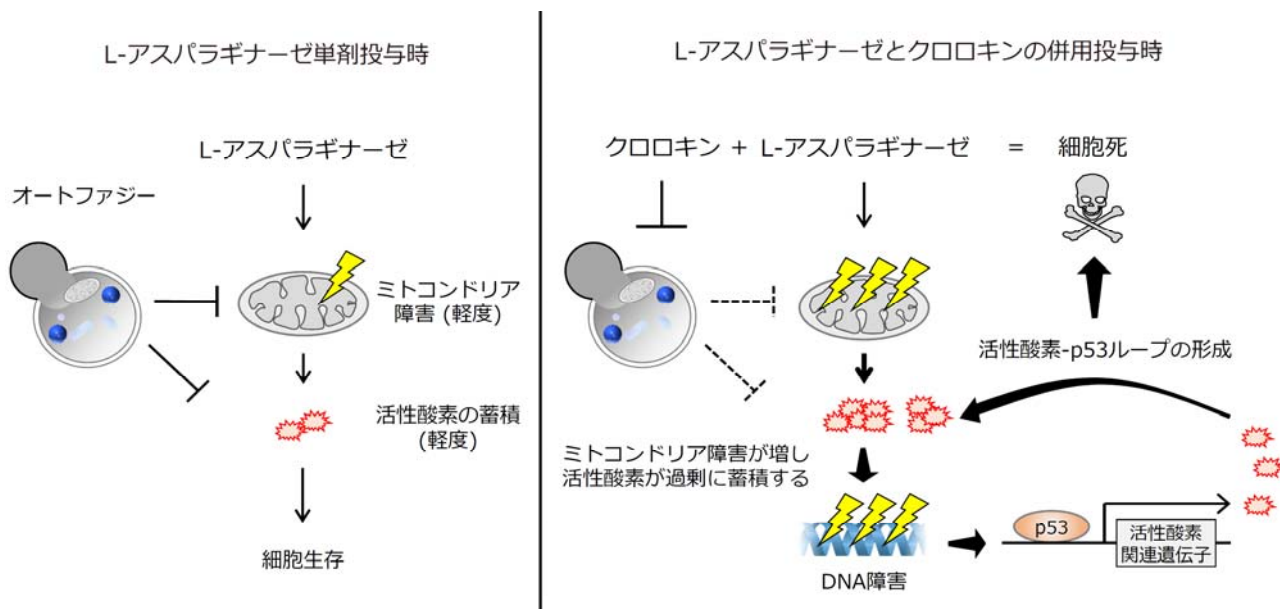


図2 L-アスパラギナーゼとオートファジー阻害薬の併用療法の分子メカニズム

左： L-アスパラギナーゼ単剤投与時、オートファジー活性が亢進してミトコンドリア障害や活性酸素の蓄積を抑える  
 右： 併用投与時には蓄積した活性酸素がDNA障害を引き起こし、p53蛋白が誘導される  
 このp53により活性酸素がさらに発生し、活性酸素-p53ループが形成され細胞死に至る

### 【研究成果の意義】

本研究では、L-asp 投与時のオートファジーが ALL 細胞において細胞保護的な役割を担い L-asp の感受性低下に寄与していること、ならびに L-asp とオートファジー阻害薬の併用療法においてがん抑制蛋白 p53 が非常に重要な役割を果たしていることを明らかにしました。小児 ALL における TP53 遺伝子変異は 6-8%と報告されており、大部分の患者さんで L-asp+オートファジー阻害薬の併用効果が期待できると考えられます。また TP53 の遺伝子解析は本併用療法を行うべき患者さんを層別化する際のコンパニオン診断としても有用であることが期待され、その活用は小児 ALL におけるプレジジョン医療の発展に寄与するものと考えます。

### 【問い合わせ先】

#### <研究に関すること>

東京医科歯科大学大学難治疾患研究所  
 分子細胞遺伝分野 氏名 稲澤 譲治 (イナザワ ジョウジ)  
 氏名 井上 純 (イノウエ ジュン)  
 TEL: 03-5803-5820 FAX: 03-5803- 0244  
 E-mail: johinaz.cgen@mri.tmd.ac.jp

#### <報道に関すること>

東京医科歯科大学 広報部広報課  
 〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45  
 TEL: 03-5803-5833 FAX: 03-5803-0272  
 E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp

浜松医科大学 総務課広報室

〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山 1-20-1

TEL:053-435-2151 FAX:053-435-2112

E-mail:koho@hama-med.ac.jp