

論 文 内 容 要 旨

題目 Synergistic targeting of Sp1, a critical transcription factor for myeloma cell growth and survival, by panobinostat and proteasome inhibitors

(パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬は骨髄腫細胞の増殖と生存に必須の転写因子 Sp1 を相乗的に標的にする)

著者 Ariunzaya Bat-Erdene, Hirokazu Miki, Asuko Oda, Shingen Nakamura, Jumpei Teramachi, Ryota Amachi, Hirofumi Tenshin, Masahiro Hiasa, Masami Iwasa, Takeshi Harada, Shiro Fujii, Kimiko Sogabe, Kumiko Kagawa, Sumiko Yoshida, Itsuro Endo, Kenichi Aihara, Masahiro Abe

平成 28 年 Oncotarget に掲載予定

内容要旨

ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害薬は、がん抑制遺伝子の転写抑制を回復し、腫瘍細胞のアポトーシスや細胞周期停止を誘導することなどにより抗腫瘍効果を発揮すると考えられているが、その抗腫瘍活性の機序は不明な部分が多い。パノビノスタットはクラス I、II および IV のヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)を広く阻害する汎 HDAC 阻害薬であり、多発性骨髄腫(MM)に対する新規抗腫瘍薬として本邦でも認可された。再発・難治 MM に対する大規模臨床試験において、パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬であるボルテゾミブの併用効果が示されている。そこで、パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬の併用がもたらす相乗的な抗腫瘍効果の分子機序を明らかにするために検討を行った。MM 細胞は正常細胞に比べ、転写因子 Sp1 を構成的に極めて高発現していたが、Sp1 の DNA 結合を阻害する Sp1 阻害薬テラメプロコールの添加により MM 細胞に強力な細胞死が誘導されることより、MM 細胞の生存・増殖が Sp1 に依存していることが示された。パノビノスタットは用量依存的に MM 細胞の Sp1 蛋白量を減少させたが、*SP1* mRNA 発現には影響しなかった。このパノビノスタットによる用量依存的な Sp1 蛋白の減少はカスパーゼ 8 の活性化と逆相関しており、またカスパーゼ 8 阻害薬 z-IETD-FMK の添加下ではパノビノスタットによる Sp1 蛋白の減少がみられなくなったことより、活性化されたカスパーゼ 8 により Sp1 蛋白が分解され減少していることが示された。パノビノスタットとともにプロテアソーム阻害薬のボルテゾミブあるいはカーフィルゾミブ

様式(8)

を併用すると、MM 細胞に対しそれぞれ単独では効果の乏しい低濃度でも両者の併用によりカスパーゼ 8 を効率よく活性化し、Sp1 蛋白の分解を惹起させ、協調的に MM 細胞の細胞死を誘導した。IRF-4 と cMyc は MM 細胞の生存・増殖に必須の因子であるが、Sp1 阻害薬テラメプロコールの添加により、MM 細胞の IRF-4 と cMyc の発現が抑制されることより、これらの因子の発現が Sp1 により制御されていることが示された。パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬は協調的に MM 細胞の IRF-4 と cMyc の発現を抑制した。また、この両者の併用は Sp1 の別の転写標的である HDAC1 の発現も減少し、MM 細胞のヒストン H3、H4 のアセチル化を増強させた。

以上の結果より、パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬との相乗的な抗 MM 作用の発現機序として、これらの薬剤の併用がカスパーゼ 8 による Sp1 の分解を増強し、その結果 IRF-4 や cMyc などの Sp1 標的因子の発現が抑制されることが考えられた。また、パノビノスタットは直接的な HDAC 阻害活性に加え、Sp1 の分解を介する HDAC1 の発現抑制により自らの HDAC 抑制活性をさらに増強していることも示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

報告番号	甲医第 1307 号	氏 名	Ariunzaya Bat-Erdene
審査委員	主査 西岡 安彦 副査 井本 逸勢 副査 片桐 豊雅		

題目 Synergistic targeting of Sp1, a critical transcription factor for myeloma cell growth and survival, by panobinostat and proteasome inhibitors

(パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬は骨髄腫細胞の増殖と生存に必須の転写因子 Sp1 を相乗的に標的にする)

著者 Ariunzaya Bat-Erdene, Hirokazu Miki, Asuko Oda, Shingen Nakamura, Jumpei Teramachi, Ryota Amachi, Hirofumi Tenshin, Masahiro Hiasa, Masami Iwasa, Takeshi Harada, Shiro Fujii, Kimiko Sogabe, Kumiko Kagawa, Sumiko Yoshida, Itsuro Endo, Kenichi Aihara, Masahiro Abe

平成 28 年 Oncotarget に掲載予定
(主任教授 安倍 正博)

要旨 難治造血器腫瘍である多発性骨髄腫(MM)に対する新規治療戦略として、プロテアソーム阻害薬とヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害薬パノビノスタットとの併用療法が臨床応用されているが、その相乗効果の分子機序は不明なままである。申請者は、MM細胞における転写因子 Sp1 の発現や役割に着目し、HDAC阻害薬パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬の併用がもたらす相乗的な抗腫瘍効果の分子機序を明らかにするために検討を行った。得られた結果は以下の通りである。

1. MM細胞は正常細胞に比べ、Sp1を構成的に高発現していたが、Sp1のDNA結合を阻害するSp1阻害薬テラメプロコール

の添加により MM 細胞に細胞死が誘導された。

2. パノビノスタットは用量依存的に MM 細胞の Sp1 蛋白量を減少させたが、*SP1* mRNA 発現には影響しなかった。また、カスパーゼ 8 阻害薬 z-IETD-FMK の添加下ではパノビノスタットによる Sp1 蛋白の減少がみられなかった。
3. パノビノスタットとともにプロテアソーム阻害薬のボルテゾミブあるいはカーフィルゾミブを併用すると、協調的に MM 細胞のカスパーゼ 8 の活性化と Sp1 蛋白の分解を惹起させ、MM 細胞に細胞死を誘導した。
4. Sp1 阻害薬テラメプロコールの添加により MM 細胞の生存・増殖に必須の因子である IRF-4 と cMyc の発現が抑制された。
5. パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬の併用によっても協調的に MM 細胞の IRF-4 と cMyc 発現が抑制された。
6. パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬の併用は Sp1 の別の転写標的である HDAC1 の発現も減少させ、MM 細胞のヒストン H3、H4 のアセチル化を増強させた。

以上の結果より、パノビノスタットとプロテアソーム阻害薬との相乗的な抗 MM 作用の発現機序として、これらの薬剤の併用がカスパーゼ 8 による Sp1 の分解を増強し、その結果 IRF-4 や cMyc などの Sp1 標的因子の発現が抑制されることが考えられた。また、パノビノスタットは直接的な HDAC 阻害活性に加え、Sp1 の分解を介する HDAC1 の発現抑制により自らの HDAC 抑制活性をさらに増強していることも示唆された。本研究は、MM の病態と治療の分子機序の解明に寄与するものと考えられ、その基礎的、臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。