

論文内容要旨

論文題目

トランスフェリン受容体1の阻害は、劇症型NK細胞白血病の肝臓微小環境における増殖を抑制する

責任講座： 内科学第三 講座
氏 名： 柳谷 稜

【内容要旨】(1,200字以内)

劇症型NK細胞白血病（以下ANKL）は成熟NK細胞に由来する稀な造血器腫瘍であり、その生存期間の中央値は2か月未満と非常に予後不良である。複数の後方視的解析から、同種造血幹細胞移植前の十分な病勢制御が長期生存のために重要であることが示されてきたが、寛解導入療法として有効性が認められている抗腫瘍薬は現在のところL-asparaginaseのみである。L-asparaginase含有レジメンの奏効率は40%程度と十分とは言えず、またANKLは肝臓に病変を形成し重篤な肝障害を伴っている症例が多く、主たる用量制限毒性が肝障害関連であるL-asparaginaseを十分に用いることができない例が少なくない。従って、ANKLの治療成績向上のためにより安全かつ効果的な新規治療法の開拓が急務となっている。我々はこれまで複数株のANKL患者由来異種移植マウスモデル（以下ANKL-PDX mouse）を樹立し、それらを解析することで、ANKL細胞は主として肝臓類洞内で高細胞周期回転を呈することが判明した。そこで、我々は肝臓微小環境に着目して新規治療標的を探索する方針とした。

ANKLの網羅的遺伝子解析ではMYCの活性化が高頻度に認められることが判明していたため、ヒト肝臓とANKL細胞のtranscriptome解析からMYCの転写標的を含む相互作用分子対を予測したところ、トランスフェリン・トランスフェリン受容体1 (TfR1) が同定された。CRISPR-Cas9ノックアウト系によるANKL細胞のTfR1ノックアウトを実施後ANKL-PDX mouseを樹立すると、肝臓中でのTfR1ノックアウトANKL細胞の増殖が著しく阻害され、同相互作用が肝臓微小環境での腫瘍増殖に必須であることが示された。次にヒトTfR1阻害抗体であるPPMX-T003を用いてANKL細胞への抗腫瘍活性を評価したところ、ANKL由来細胞株およびANKL-PDX mouse内のANKL細胞の双方に対して濃度依存性に増殖抑制効果と細胞死誘導効果を認めた。PPMX-T003を用いたANKL-PDX mouseへの治療試験では、未治療群と比較しておよそ2倍の全生存期間の延伸を認め、また*in vivo*イメージング解析では治療開始後早期に肝臓から腫瘍細胞が著減することが示された。PPMX-T003による治療前後での発現変動遺伝子解析では、mTOR複合体1 (mTORC1) の抑制分子であるDDIT4の発現上昇が治療後早期から認められ、またmTORC1シグナル伝達系を抑制したANKL由来細胞株ではPPMX-T003の抗腫瘍活性が低下することから、DDIT4の発現上昇は、PPMX-T003に対する主要な薬剤耐性因子となっている可能性が示唆された。

今回、ANKLの主たる増殖の場である肝臓微小環境に着目することで、必須相互作用分子対としてTf-TfR1を同定し、その阻害薬の顕著な抗腫瘍活性を示すことができた。高度な肝障害を呈するANKL症例に対して、L-asparaginase投与に向けた病勢制御と肝障害の改善を早期に図る目的で、PPMX-T003が有効である可能性が示唆された。(1051字)

令和4年 12月 27日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：柳谷 稜

論文題目：トランスフェリン受容体1の阻害は、劇症型NK細胞白血病の肝臓微小環境における増殖を抑制する

審査委員：主審査委員 永瀬 智



副審査委員 北中 千史



副審査委員 吉岡 孝志



審査終了日：令和4年 12月 26日

【 論文審査結果要旨 】

劇症型NK細胞白血病（以下ANKL）は稀な造血器腫瘍であるが、全生存期間の中央値は51日間と極めて予後不良な疾患である。L-asparaginaseを含むレジメンによる寛解導入療法を経て同種血幹細胞移植を実施した症例の無再発生存や全生存期間がそれ以外のレジメンに比較して優れていたという報告があるが、その全奏効率は40%程度と低い。L-asparaginaseの主な用量制限毒性は肝障害であり、さらに、ANKLは腫瘍浸潤により初診時にすでに肝障害を来していることが多く、十分量のL-asparaginaseを用いることが難しい。この臨床課題を解決するため、本研究はANKLの病勢を制御し肝障害を改善させ得る新規治療法の開発を目的に行われた。

まず、肝臓とANKL細胞におけるtranscriptomeの*in silico*解析により相互作用分子対としてトランスフェリン-トランスフェリン受容体1（TfR1）を同定した。さらに、TfR1をコードするTFRCのCRISPR-Cas9によるノックアウトで、ANKL細胞の肝臓内での増殖にTfR1が必須であることを確認した。続いて、TfR1の特異的抗体であるPPMX-T003を用いた抗腫瘍効果の検証を行った。この結果、PPMX-T003は濃度依存的に増殖抑制効果を呈すること、アポトーシスを誘導することを確認し、PDX-mouse modelにおいて、同様の抗腫瘍効果とアポトーシス誘導、および、PPMX-T003投与による肝臓内腫瘍細胞の減少と生存期間延伸・体重回復を確認した。PPMX-T003抗腫瘍効果のメカニズムの解析では、PPMX-T003投与早期から変動するDDIT4に着目した。*In vitro*および*in vivo*において、PPMX-T003はANKL細胞内にてDDIT4の発現上昇を介してmTORC1のシグナル伝達を低下させ、抗腫瘍活性はmTORC1が介在するシグナル伝達系の活性に依存することを示した。

審査委員会においては、1）肝臓の微小環境についてクッパー細胞や内皮細胞など他の細胞との相互作用に関して、2）腫瘍細胞が脾臓に残存するのか、肝臓から逃避するのか 3）投与終了後に再度肝臓に広がる機序などについて質疑応答がなされた。いずれも適切に回答するとともに、追加研究で検証している段階であった。論文提出後の研究進捗により、考察の記載を一部修正する必要がある点や研究schemeの修正が指摘されたが、本研究は予後不良のANKLに対する新規治療法開発の重要な基盤となる知見であり、学位（医学）に十分値するものと全員一致で判定された。