

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

内田 晶子

主論文の題目
および

掲載誌・審査委員名

題 目：Targeting BCL2 with Venetoclax is a Promising Therapeutic Strategy for “Double-Protein-Expression” Lymphoma with *MYC* and *BCL2* Rearrangements. (Venetoclax による BCL2 標的治療は *MYC* 及び *BCL2* 遺伝子再構成を持つ “double-protein-expression lymphoma” に対する有望な治療戦略である)

掲載誌：Haematologica 2018 (in press)

主査 鈴木 直

副査 佐治 久

副査 古屋 直樹

[論文の要旨・価値] *MYC* と *BCL2* 遺伝子再構成を同時に持つ B 細胞腫瘍は “double-hit (DH) lymphoma” と呼ばれていたが、2017 年の WHO 分類で組織型にかかわらず high grade B-cell lymphoma with *MYC* and *BCL2* and/or *BCL6* rearrangements (DH-HGBL) と規定された。DH-HGBL のほとんどは *MYC* と *BCL2* を共発現する “double-protein-expression lymphoma (DH-DPL)” であり、その 70% 以上の組織型が diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) である。DH-DPL は germinal center B 細胞 (GCB) 型の遺伝子発現様式をとり、通常の化学免疫療法では生存期間中央値が 1 年程度と極めて予後不良のため新規治療法の開発が急務である。そこで本研究では新規治療法開発のための基礎的検討が行われた。[方法・対象] 2012～2018 年に GCB 型 DLBCL と診断した症例を抽出し、FISH 法と免疫染色の結果から DH-HGBL、*MYC* と *BCL2* 遺伝子再構成を同時に持たないが DPL となる non-DH DPL、その他の GCB 型 DLBCL に分類し、各群間の *MYC* と *BCL2* ファミリー蛋白 (*BCL2*・*MCL1*・*BIM*・*BAX*) の発現率を比較検討した。Mann-Whitney U または Student’s t 検定を行い $p < 0.05$ を有意とした。また GCB 型 DLBCL 細胞株 (Karpas231・OCI-Ly8・BJAB・SU-DHL10) を用い、*MYC* の転写活性を抑制する BRD4 阻害薬 JQ-1、*BCL2* 阻害薬 Venetoclax (VEN)、*MCL1* 阻害薬 S638545、*BCL-xL* 阻害薬 A1155463 添加後の *in vitro* での増殖とアポトーシス変化を検討した。さらに VEN 添加による直接効果と *BCL2* ファミリー蛋白量の変化について免疫沈降法 (IP) と Western blot 法 (WB) で検討した。本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認を得て行われた (承認番号第 4003 号)。[結果] 27 例の GCB 型 DLBCL が抽出され、8 例が DH-HGBL、5 例が non-DH DPL であった。*MYC* と *BCL2* の発現率は DH-HGBL で non-DH DPL を含むその他の GCB 型 DLBCL と比べて高かったが (それぞれ $p=0.028$ 、 $p=0.013$)、DH-HGBL と non-DH DPL の間では差がなかった。*BIM*・*BAX* の発現率は 3 群間で差はなかったが、*MCL1* の発現率は DH-HGBL で non-DH DPL を含むその他の GCB 型 DLBCL と比べて有意に低かった ($p=0.005$)。この *MCL1* 発現低下は non-DH DPL 群と比べても有意差が認められた ($p=0.019$)。FISH 法と WB 法の結果から Karpas231 と OCI-Ly8 が DH-DPL、BJAB が non-DH DPL であった。*In vitro* の薬剤感受性検討では、VEN は低濃度で Karpas231・OCI-Ly8 のみ細胞増殖を抑制し、200 nM 24 時間曝露で 80% 以上の細胞にアポトーシス変化を誘導した。また、DH-HGBL 症例の DH-DPL 細胞も VEN にアポトーシス高感受性を示した。2 つの DH-DPL 細胞株で VEN は添加 3 時間の段階でリン酸化 *BCL2* の割合低下と *MCL1* さらには *BCL2* の脱リン酸化に関わる PP2A B56 α の蛋白量低下をもたらした。なお IP-WB 法では、VEN は 2 つの DH-DPL 細胞株で *BCL2* と *BIM* の結合を阻害するだけでなく、*BCL2* 結合 PP2A B56 α の割合をも増加させた。

以上、申請者らは、DH-DPL 細胞の生存が *BCL2* に強く依存し、リン酸化 *BCL2* の割合や *MCL1* の発現そのものが VEN によって減弱することを初めて示した。本研究は、*BCL2* 阻害薬である VEN が DH-DPL に対する有望な治療薬となることを明らかにした研究であり、医学的に大変価値が高いと論文であると思われた。

[審査概要] 教育棟 5 階セミナー室 6 において主査、副査 2 名、指導教授他の陪席のもと審査が行われた。まず申請者による約 30 分間のプレゼンテーションが行われ、良くデザインされたスライドを用いた分かりやすい的確な発表が行われた。60 分の質疑では、*BCL2* の *BAX* や *BIM* との結合に対する VEN の作用機序に関して、リン酸化 *BCL2* に対する VEN の作用と *BCL2* のリン酸化がバイオマーカーとなり得るのかに関して、臨床試験の立案を今後想定した場合の申請者の考えに関して、稀少疾患故 P-III 試験による検証が困難である中臨床的な検証をどの様に行っていくのかなど深い討論が展開されたが、申請者は的確に真摯に回答した。

最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語 (英語) 試験等の評価] 申請者は、研究の背景や要点、将来の展望に併せて、本研究の限界に関しても真摯にかつ明確に発表していた。外国語試験は参考文献の一部を課題として行ったが、読解力はあると評価した。申請者は十分な専門知識と研究遂行能力を持ち、その人柄を含め、学位授与に値する素晴らしい人物であると判断した。