

論文審査の要旨	
筆頭著者（学位申請者）氏名	小関 昭仁
主論文の題目 および 掲載・審査委員	題目 EZH1/2 Dual Inhibitors Suppress HTLV-1-infected Cell Proliferation and Hyperimmune Response in HTLV-1-associated Myelopathy (EZH1/2二重阻害剤はHTLV-1関連脊髄症におけるHTLV-1感染細胞の増殖と過剰免疫応答を抑制する) 掲載誌 Frontiers in Microbiology 2023; 14:1175762.
	主査 宮部 斎重 副査 新井 文子 副査 中田 なぎさ
<p>【論文の要旨・価値】【背景】Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1)は HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 及び、成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATL)を発症させる。ヒストンメチル化酵素 EZH2 過剰発現によって HTLV-1 感染細胞ががん化する ATL では、近年、EZH1/2 二重阻害剤が治療薬として用いられる。一方、HTLV-1 感染細胞に対する過剰免疫応答が主病態と考えられている HAM では EZH2 の発現及び機能は不明であった。本研究では HAM における EZH2 の発現・機能を解明し、新規治療標的になり得るかを解析した。【方法・対象】HAM 患者 21 例 (男性 5 例、女性 16 例、平均年齢 69 歳)から末梢血を採取し、HTLV-1 感染細胞 (CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T 細胞)または末梢血単核球 (PBMC)を単離した。また、健常者 [HD] 8 例 (男性 4 例、女性 4 例、平均年齢 39 歳)から同細胞を採取した。EZH2 発現はマイクロアレイ及び逆転写定量 PCR (RT-qPCR)で解析した。HAM の EZH2 機能を解析する為、EZH2 阻害剤または EZH1/2 二重阻害剤を使用した。HAM-PBMC の自発的増殖応答を用いて、<sup>3</sup>H チミジン取り込みアッセイやフローサイトメトリー (FC)による細胞増殖マーカー Ki67 発現解析にて細胞増殖を評価した。また、RT-qPCR で HAM-PBMC 中のプロウイルス量、cytometric bead array 法で培養上清中のサイトカイン(IFN-γ、TNF-α、IL-6、IL-10)濃度を測定した。アポトーシスは FC で HAM 患者由来 HTLV-1 感染細胞株 (HCT-4、HCT-5)のアネキシン V、7-アミノアクチノマイシン-D 発現を解析した。本研究は本学生命倫理委員会 (承認番号 第 1646 号)の承認を得ている。【結果】マイクロアレイ解析では HAM 患者由来 CD4<sup>+</sup>T 細胞では HD と比べ、EZH2 は 2.4 倍高発現し、RT-qPCR 解析では HAM 患者由来 CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T 細胞では HD より EZH2 は 2.6 倍高発現していた。<sup>3</sup>H チミジン取り込みアッセイでは EZH2 阻害剤と比較し、EZH1/2 二重阻害剤はより低濃度で HAM-PBMC の自発的増殖を優位に抑制し、HAM-PBMC 中の Ki67<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>及び CD8<sup>+</sup>T 細胞が減少した。また、EZH1/2 二重阻害は HAM-PBMC 中の HTLV-1 プロウイルス量を低下させ、抗炎症性サイトカイン IL-10 産生を亢進したが、炎症性サイトカイン (IFN-γ、TNF-α) 産生は抑制しなかった。HCT-4 及び HCT-5 を用いたアポトーシス解析では EZH1/2 二重阻害剤はアネキシン-V<sup>+</sup>7-アミノアクチノマイシン D<sup>+</sup>の初期アポトーシス細胞を誘導促進した。【考察】ATL 同様に HAM 患者由来感染細胞でも EZH2 発現が上昇し、EZH1/2 二重阻害は①アポトーシス誘導による HTLV-1 感染細胞の減少、②HTLV-1 特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞増殖の抑制、③抗炎症性サイトカイン IL-10 産生亢進を誘導した。以上から、EZH1/2 二重阻害剤は HAM における過剰免疫応答を抑制し、新規治療薬となりうる事が示唆された。【本論文の価値】HAM 病態は依然不明な点が多く、難治である。本研究で得られた知見は HAM の病態解明と新規治療戦略の構築に繋がる大変貴重な報告と言える。</p>	
<p>【審査概要】教育棟 5 階セミナー室 6 において主査 1 名、副査 2 名及び指導教授含む陪席者 3 名で実施された。申請者による約 20 分のプレゼンテーションでは研究背景、手法、結果、考察及び今後の展開について的確な発表がなされた。その後、約 40 分の質疑応答では EZH2 阻害と比較し、EZH1/2 阻害がより有効であった理由、炎症性サイトカイン産生を抑制せず、過剰免疫応答を抑制する機序、生体内での EZH1/2 二重阻害剤の有効濃度など多岐に渡る質問がなされたが、申請者は終始真摯な態度で概ね的確に回答した。</p>	
最終試験結果の要旨	
<p>【研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価】申請者は、学位論文の内容、研究内容の発表及び質疑応答から十分な研究能力及び専門的学識を有すると判断した。英語読解能力に関しては引用文献の 1 つを指定し、抄録を和訳する事で評価し、十分な英文読解力を有すると判断した。受審態度は常に真摯であり、研究に対する意欲や今後の展開への意気込みも感じられた。以上により申請者小関昭仁君は学位（博士）授与に値する人物であると判断した。</p>	