

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 丹下 直幸

論 文 題 目

Staurosporine and venetoclax induce the caspase-dependent proteolysis of MEF2D-fusion proteins and apoptosis in *MEF2D*-fusion (+) ALL cells

(Staurosporine と Venetoclax は *MEF2D* 融合遺伝子陽性急性リンパ性白血病に対しカスパーゼ依存的な *MEF2D* 融合蛋白の分解とアポトーシスを誘導する)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委員

西川 博嘉 

名古屋大学教授

委員

松下 正 

名古屋大学教授

委員

木村 宏 

名古屋大学教授

指導教授

清 井 仁 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、Luciferase assay を用いた、標的蛋白の分解を誘導する化合物のスクリーニングシステムを開発し、Staurosporine が Myocyte enhancer factor 2D (MEF2D) 融合蛋白を分解することを発見した。MEF2D 融合遺伝子陽性株 (Kasumi-7、Kasumi-9、TS-2) に対して選択的な抗白血病効果を認め、Staurosporine による MEF2D 融合蛋白の減少が抗白血病効果を増強させる可能性が示唆された。Z-VAD-FMK の併用により Staurosporine による Kasumi-7 の MEF2D 融合蛋白の減少が阻害された。In vitro cleavage assay では MEF2D 融合蛋白は D125 において caspase により切断され、TS-2 細胞に発現させた D125E 変異 MEF2D 融合蛋白は Staurosporine 投与による蛋白減少を回避した。以上の結果から、Staurosporine は caspase 依存的に MEF2D 融合蛋白を D125 で切断し、apoptosis を誘導していると考えられた。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. MEF2D 融合蛋白をマウス骨髄細胞へ導入するとコロニー形成能が増加するとの報告や、NIH3T3 細胞へ導入すると形質転換が起こるとの報告があり、MEF2D 融合蛋白は白血病の生存に有利に働くと考えられている。また、microRNA の制御を回避することで MEF2D 融合蛋白が高発現となり、B 細胞分化のマスター因子である PAX5 の転写活性を抑制することで分化停止を起こすと考えられている。今回の研究においては、スクリーニングにより同定した Staurosporine が MEF2D 融合蛋白を減少させ、MEF2D 融合遺伝子陽性株に対して選択的な抗白血病効果を認めることを確認した。

2. Staurosporine は実験医学において代表的な apoptosis 誘導剤として用いられているが、apoptosis 誘導機序については見解が定まっていない。1980 年代に誘導體 7-hydroxy-staurosporine (UCN01) が開発され、複数の phase 1/2 試験が行われたが、血漿蛋白との結合能が高く有効血漿濃度が保てないことなどから臨床開発が進んでいない。Staurosporine が caspase 依存的に MEF2D 融合蛋白を切断することから、すでに臨床応用されている Venetoclax に関しても同様の効果を確認している。

3. 特定の蛋白を標的とした治療開発は、酵素を標的としたキナーゼ阻害薬や細胞表面蛋白を標的とした抗体薬の開発が先行しており、細胞内蛋白である転写因子や足場蛋白を標的とした新薬の開発は遅れている。E3 ライガーゼと結合させることで蛋白分解を誘導する proteolysis-targeting chimeric molecules (PROTACs) といった新たな技術が開発されているが、PROTACs 開発の技術的な困難さ、標的蛋白が治療標的となるのか完成まで確認できない、といった問題があり、今回開発された Luciferase assay を用いたスクリーニングシステムが応用できる可能性がある。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するにふさわしい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	丹下直幸
試験担当者	主査	西川 尚志	副査 ₁	松下 也
	副査 ₂	木村 宏	指導教授	清井 仁
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. MEF2D融合蛋白の急性リンパ性白血病発症機序について 2. Staurosporineの臨床応用の可能性について 3. 特定の蛋白を分解させる薬剤治療開発戦略について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、血液・腫瘍内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				