

# 論文審査の結果の要旨

氏名 ブイ ティ キム リ

FLT3 は class III の受容体型チロシンキナーゼファミリーに属する分子である。細胞外領域は5つの immunoglobulin 様ドメインを持ち、細胞内領域にはキナーゼ挿入領域を介在するチロシンキナーゼドメイン(TKD)を持つ。急性骨髄性白血病 (AML)では FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3)の構成的な活性化をもたらす変異が約30%の症例で認められる。変異は、細胞内領域の幕近傍領域のタンデムな増幅 (ITD)や、チロシンキナーゼ活性化ループドメインの gain-of-function 型のミスセンス点変異などにより、構成的に FLT3 が活性化している。従って、活性化 FLT3 は AML の格好の治療標的となっている。

本論文の筆者は、緑茶成分 polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) が、変異 FLT3 を持つ AML 細胞の増殖抑制やアポトーシス誘導をもたらすことを示してきた。その過程で、EGCG が FLT3 の発現抑制と下流の AKT, MAPK や STAT5 シグナル伝達系の活性抑制を示すことを見出した。しかし、EGCG による FLT3 の生業機構は十分に明らかになっていない。2009年に Yin らは EGCG が heat shock protein (Hsp) 90 の強力な阻害剤であることを示した。一方、変異型の FLT3 は Hsp90 の client protein である事も知られている。しかし、変異 FLT3 に対する Hsp90 のシャペロン機能に関してはいまだ議論が定まっていない。従って、本論文の研究目的は、(1) EGCG による FLT3 発現抑制への Hsp90 の関与、(2) EGCG による FLT3 promoter 活性への作用と遺伝子発現抑制、(3) 変異 FLT3 を持つ AML 細胞に対する EGCG と他の阻害剤(PKC412) の併用効果、について明らかにすることである。

最初に Hsp90 が FLT3 のシャペロンとして機能するかを解析した。その結果、THP1 細胞株の野生型の内在性 FLT3 は Hsp90 と相互作用しないこと、しかし、293FT に過剰発現させた野生型 FLT3 は Hsp90 と複合体形成をすることを見出した。リン酸化状態を解析することにより、THP-1 の内在性野生型 FLT3 はリン酸化されておらず 293T 細胞に過剰発現させた野生型 FLT3 はリン酸化していることが示された。リン酸化欠損変異 FLT3-WT/ITD/D835V-K644R が 293FT 歳暮に過剰発現させても Hsp90 と相互作用しないことなどが明らかになり、Hsp90 と FLT3 の相互作用はリン酸化に依存することを明らかにした。次に、EGCG は Hsp90 の機能阻害を介して FLT3 の細胞レベルを制御する可能性を検討した。その結果、293FT 細胞で過剰発現させた FLT3 と MOLM-13 細胞株の FLT3 は、EGCG によって Hsp90d との相互作用を阻害されることを明らかにした。

EGCG に比較して、これまではポリフェノール (ECG, EGC および catechin) の生物学的活性に関しての解析は報告が少ない。筆者はこれらのポリフェノールのうち ECG と EGC が、Hsp90 の阻害を介して FLT3 の発現を抑制することを示した。一方、EGCG がプロモーター活性の抑制を介した発現抑制作用を示すことも初めて明らかにした。一方、PKC412 の併用によって EGCG の生理的な血中濃度(<10 $\mu$ M)でも効果的に FLT3 の発現抑制効果を示すことを明らかにした。

これらの結果から、EGCG, EGC および ECG は Hsp90 との相互作用の抑制を介して FLT3 不安定化すること、および EGCG が転写レベルでも FLT3 の発現抑制作用を示すことを明らかにした。これらの結から、EGCG 単独あるいは PKC412 のような FLT3 との併用が AML 患者の治療薬となりうる可能性を初めて明らかにした。したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1654 字