

論 文 要 旨

Overexpression of survivin in primary ATL cells and sodium arsenite induces apoptosis by down-regulating survivin expression in ATL cell lines

成人 T 細胞白血病における survivin の過剰発現とヒ素は survivin の発現レベルを低下させ、ATL 細胞のアポトーシスを誘導する

車 暁芳

【序論および目的】

成人 T 細胞白血病 (Adult T-cell Leukemia-Lymphoma, ATL) は、ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (human T-cell leukemia virus type I, HTLV-I) の感染で CD4 陽性 T 細胞の腫瘍性増殖を特徴とする疾患である。ATL は治療抵抗性が高いため予後は極めて悪い。ATL の薬剤耐性は P-gp、MRP1、LRP などの発現との関係が知られているが、アポトーシス抵抗性も一つの要因と考えている。新しい治療法の開発は、ATL 治療にとって重要である。我々は ATL におけるアポトーシス抑制因子を調べた上で、新しい治療法のヒ素の ATL 細胞のアポトーシス誘導のメカニズムを解明した。

【材料および方法】

1. 我々は ATL 38 症例 (急性型 ATL 23、慢性型 ATL 12 とくすぶり型 ATL 3 例) と健常人 17 人の末梢血単核球から抽出した RNA を用いて、Real-time PCR 法で IAP ファミリーの Survivin、IAP-1 と XIAP の mRNA レベルを調べた。
2. ATL 細胞株 S1T、MT2 とリンパ球白血病細胞株 Jurkat のヒ素に対する感受性を MTT Assay で測定した。
3. 各濃度のヒ素の存在下で、S1T、MT2 と Jurkat 細胞の増殖を 5 日間または 7 日間連続的に MTT Assay で測定した。
4. S1T、MT2 と Jurkat 細胞を各濃度のヒ素で 3 日間連続処理し、FACS で SubG1 を測定し、アポトーシスを評価した。
5. S1T と MT2 細胞をヒ素で処理し、caspase 3 の活性を microplate fluorescence

reader で測定した。

6. S1T、MT2 と Jurkat 細胞を各濃度のヒ素で処理し、Western Blot により survivin、bcl-2、PARP などの蛋白レベルを調べた。

7. S1T と Jurkat 細胞を各濃度のヒ素で処理し、RT-PCR により survivin の RNA レベルを調べた。

8. S1T と MT2 細胞をヒ素で処理した後、細胞質と核を分画し、NF- κ B の P65 と P50、I κ B α の蛋白レベルを調べた。

【結果】

1. 健常人由来の T 細胞に比べ、ATL 細胞のほうが、survivin の mRNA 量は有意に高かった ($p < 0.01$)。急性型 ATL は、慢性型とくすぶり型 ATL と比べて、survivin の mRNA 量が有意に高かった ($p < 0.05$)。Performance status (PS) 3-4 の ATL は PS 1-2 の ATL より survivin の発現が高かった ($p < 0.05$)。IAP ファミリーの IAP1、IAP2、XIAP は、ATL と健常人の間で有意差が見られなかった。
2. ATL 細胞 MT2 と S1T は、Jurkat 細胞と比べてヒ素に対する感受性が高かった。
3. ヒ素は MT2 と S1T 細胞の増殖を濃度と時間依存的に抑制した。
4. ヒ素は MT2 と S1T 細胞のアポトーシスを濃度と時間依存的に誘導した。
5. ヒ素は濃度と時間依存的に MT2 と S1T 細胞の Caspase 3 を活性化した。
6. ヒ素は濃度と時間依存的に MT2 と S1T 細胞の Survivin 蛋白発現を抑制した。
7. ヒ素は濃度と時間依存的に S1T 細胞の Survivin RNA 発現を抑制した。
8. ヒ素は MT2 と S1T 細胞で NF- κ B (P65) の核移行を抑制した。

【結論及び考察】

1. Survivin は ATL に高発現し、抗癌剤治療抵抗性の重要な因子である。
2. ヒ素は ATL 細胞株 S1T のアポトーシスを誘導する。
3. ヒ素は ATL 細胞株の survivin 発現を低下させる。
4. ヒ素は ATL 細胞株の NF- κ B (P65) の核移行を抑制する。
5. ATL 細胞においては、ヒ素は NF- κ B の核移行を抑制することによって、Survivin の発現を低下させ、アポトーシスを誘導する。