

公益財団法人富山第一銀行奨学財団
理事長 野村 充 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 :	800 千円
研究代表者 : 菊地尚平	所属 : 学術研究部医学系	職位 : 講師
研究題目 : XIAP を標的とした新規多発性骨髄腫治療の開発		

研究概要

根治困難な多発骨髄腫 (MM) は、既存の治療法では完治が難しい血液がんの一つであり、新規治療薬による治療成績の向上が必須である。骨髄腫細胞は強固な抗アポトーシス作用を持つ特徴があり、そのため効率的なアポトーシス誘導が主要な治療戦略の一つとして注目されている。アポトーシス阻害タンパク (IAP) は、アポトーシスの実行因子であるカスパーゼを直接的に抑制し、細胞死シグナルを制御する重要な因子であることから、これまで有望な治療標的として精力的に研究が進められてきたが、期待された治療効果が得られず、臨床応用には至っていない現状がある。

このような背景の中で、申請者は IAP ファミリーの中でも特に XIAP アイソザイムに着目した研究を行い、XIAP 阻害が骨髄腫細胞に対して特に強力なアポトーシス誘導作用をもたらすことを報告した。さらに詳細な解析により、従来開発されてきた IAP 阻害剤では XIAP 阻害効果が不十分であり、効果的な XIAP 阻害にはダイマー構造を有する阻害剤が必要不可欠であることを明らかにした。本研究課題では、これらの知見に基づき、XIAP を含む IAP ファミリーを標的とした革新的な治療戦略の可能性を示すとともに、その臨床応用に向けた展開を推進することを学術的な重要課題として位置付けている。

成果要約

1. 研究材料と方法

Dimeric Smac Mimetics SM-164 (分子式: C₆₂H₈₄N₁₄O₆) を使用した (Figure. 1)。実験材料として、異なる特性を持つ複数の MM 細胞株 (MM. 1S、MM. 1R、RPMI、IM-9、KMS-5、KMS-11、H929) を使用し、包括的な解析を行った。薬剤の効果を多角的に評価するため、細胞増殖抑制効果については MTT アッセイを用いて定量的に測定し、IAP 阻害効果の蛋白分子レベルでの解析には Western Blotting 法を採用した。さらに、アポトーシス誘導効果の詳細な評価には、Western Blotting 法によるタンパク質レベルでの解析と、Annexin V-PI アッセイによるフローサイトメトリー解析を組み合わせて実施した。

2. 結果

2-1. SM-164 による IAP 阻害効果

MM. 1S 細胞株において IAP アイソザイムの発現変化を解析したところ、SM-164 は XIAP と cIAP1 の発現を抑制することが判明した (Figure. 2)。この結果は、申請者の先行論文 (Kikuchi, S et. al. Journal of Pharmacological Sciences, 154(1):30-36. 2024) で示した Dimeric Smac Mimetics AZD-5582 の結果と一致し、ダイマー構造を持つ SMAC Mimetics が BIR2 および BIR3 ドメインを同時に抑制

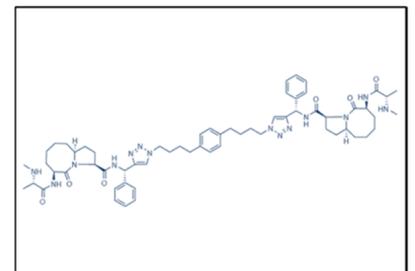


Figure.1

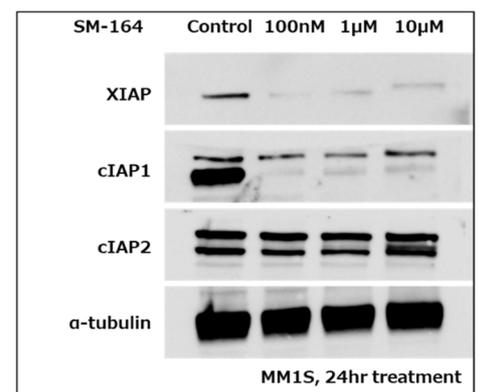


Figure.2

することで XIAP 阻害効果をもたらすという仮説を裏付けた。

2-2. SM-164 による細胞増殖抑制効果

MM 細胞株における SM-164 の細胞増殖抑制効果を検討した結果、濃度依存的な増殖抑制効果が認められた (Figure. 3)。MM. 1S、MM. 1R、H929 細胞株は高い感受性を示したのに対し、KMS-5 細胞株は最大濃度 20 μ M でも IC50 値に達しない耐性を示した。

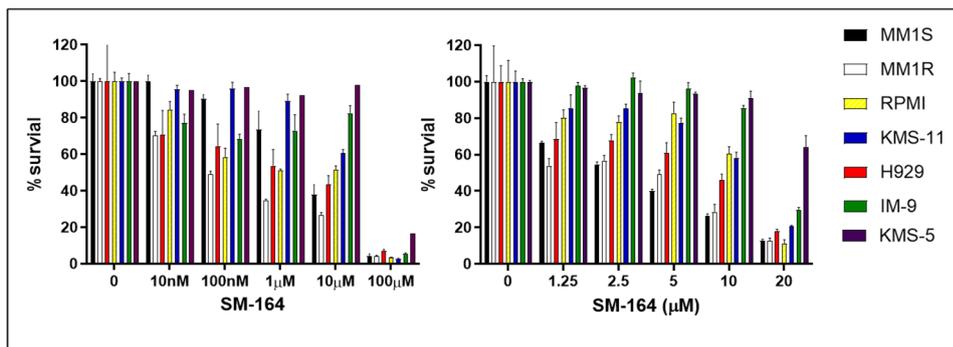


Figure.3

2-3. SM-164 によるアポトーシス誘導効果

細胞増殖抑制の作用機序を解明するため、Western Blotting 法と FACS 解析によりアポトーシス誘導効果の評価した。Western Blotting 解析では、濃度依存的に PARP と Caspase-3 の切断型が検出され、SM-164 の細胞増殖抑制効果がアポトーシス誘導を介することが確認された (Figure. 4A)。また、Caspase-8 と Caspase-9 の切断型も濃度依存的に認められ、内因性・外因性の両経路でアポトーシスが誘導されることが示された。cIAP1 は Caspase-8 を、XIAP は Caspase-9 を抑制し、さらに両者は共通経路の Caspase-3、7 も抑制する。このことから、SM-164 による cIAP1 と XIAP の二重抑制が強力なアポトーシス誘導につながったと考えられた。

Annexin V-PI アッセイによる FACS 解析においても、SM-164 処理による濃度依存的かつ時間依存的なアポトーシス誘導が確認された (Figure. 4B)。

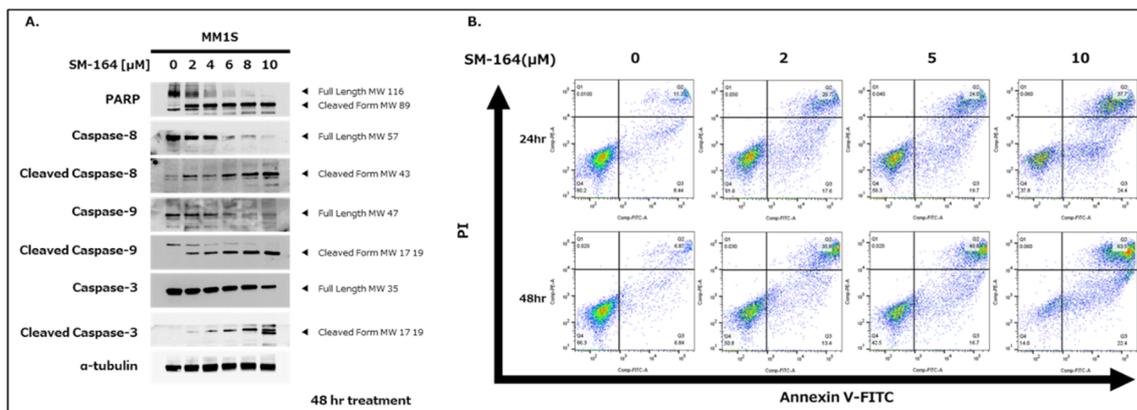


Figure.4

以上の結果から、Dimeric Smac Mimetics SM-164 は先行論文で報告した AZD-5582 と同様に、cIAP と XIAP の二重阻害により単剤で MM 細胞株に強力なアポトーシス誘導効果を示すことが実証された。現在、アポトーシス誘導に関与する Bcl-2 関連タンパク質の発現を RNA およびタンパク質レベルで解析し、アポトーシス誘導の詳細な分子機構の解明を進めている。

研究成果発表状況	雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況		
経費の執行状況	区分	執行額(円)	備考
	旅費関係	37,900 円	第 22 回日本臨床腫瘍学会学術集会に参加
	物品関係	762,100 円	