



In vitro efficacy of L-asparaginase in childhood acute myeloid leukaemia

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 岡田, 周一 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/320

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 4 1 9 号	学位授与年月日	平成 1 8 年 2 月 1 5 日
氏 名	岡 田 周 一		
論文題目	In vitro efficacy of L-asparaginase in childhood acute myeloid leukaemia (小児急性骨髄性白血病に対する L-アスパラギナーゼ in vitro における有効性)		

博士(医学) 岡 田 周 一

論文題目

In vitro efficacy of L-asparaginase in childhood acute myeloid leukaemia

(小児急性骨髄性白血病に対するL-アスパラギナーゼの*in vitro*における有効性)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

L-アスパラギナーゼは、急性リンパ性白血病(ALL)の治療において最も重要な薬剤の一つである。一方急性骨髄性白血病(AML)においては、French-American-British(FAB)分類M5に対する有効性は示唆されているが、他のFABサブタイプに対する有効性は不明である。多くの白血病治療薬と異なり、L-アスパラギナーゼは骨髄毒性が軽度であるという特徴を有しており、AMLにおける抗腫瘍効果を検討し、臨床使用の可能性を探ることは有意義と考えられる。

〔材料ならびに方法〕

common ALL(cALL)患者177名、AML患者228名の診断時の骨髄または末梢血から、Ficoll-Paqueを用いて比重遠心法により単核球を分離した。分離後白血病細胞は単核球の80%以上を占め、生細胞率は95%以上であることを確認した。96穴プレートを用いて、薬剤を含まないあるいは段階希釈したL-アスパラギナーゼを含む培養液(10%胎児ウシ血清入りRPMI1640)中に5%CO₂、37℃で単核球を4日間培養した。L-アスパラギナーゼの最終濃度は0.016-10.00U/mlとした。1ウェル(培養液100μl)あたりの単核球数は、cALLでは3×10⁵個、AMLでは1×10⁵個とした。4日間培養後、methyl-thiazol-tetrazolium(MTT)アッセイにより、薬剤無添加ウェルをコントロールとしてL-アスパラギナーゼ添加ウェルの殺細胞率を算定した。用量反応曲線から70%の殺細胞率を示すL-アスパラギナーゼの濃度(LD70^{asp})を求めた。AMLをFABサブタイプ、性、初発時年齢、初発時白血球数により分類し、各群におけるL-アスパラギナーゼに対する*in vitro*薬剤感受性・耐性を評価し、さらにcALLのそれと比較検討した。2群間の比較にはt検定を、多群間の比較には分散分析およびFisher's protected least significant difference法を用いて解析した。

〔結果〕

LD70^{asp}の中央値はcALLで0.46U/ml、AMLで6.70U/mlであった(P<0.0001)。AMLのFABサブタイプ別のLD70^{asp}中央値はM0(n=13)、0.76U/ml; M1(n=32)、0.46U/ml; M2(n=79)、10.00U/ml; M3(n=13)、10.00U/ml; M4(n=34)、1.18U/ml; M5(n=36)、1.35U/ml; M7(n=21)、10.00U/mlであった。M3においては他のFABサブタイプより有意に高値であり、M2においてはM1、M4、M5と比較して有意に高値であった。M0とM7はM3以外のサブタイプとは有意な差は認めなかった。LD70^{asp}に影響を与える可能性がある因子として、性別、初発時年齢、初発時白血球数について検討したが、性別と年齢によりLD70^{asp}は影響を受けなかった。白血球数によるLD70^{asp}中央値は<1×10⁴/μl(n=77)、10.00U/ml; 1-9.99×10⁴/μl(n=117)、5.20U/ml; 310×10⁴/μl(n=32)、1.18U/mlであった(p=0.027)。しかし、各FABサブタイプの中では白血球数によるLD70^{asp}に差は認めず、白血球数10×10⁴/μl以上の群32名の内29名はM1、M4、M5に属していた(M1、10; M4、8; M5、11)。LD70^{asp}により低値群(0.016-0.159U/ml)、中間値群(0.16-1.59U/ml)、高値群(1.6-10.00U/

ml)に分類した場合、cALLにおいてはそれぞれ37.9%、27.7%、34.5%の頻度であった。M1においては、それぞれ31.3%、31.3%、37.5%の頻度であり、cALLと同様の傾向を認めた。M1、M4、M5においてLD70^{asp}低値群と中間値群を合わせた頻度は、それぞれ62.6%、64.7%、52.8%であった。

〔考察〕

L-アスパラギナーゼによってアスパラギンが枯渇すると、アスパラギン合成酵素をもたない腫瘍細胞は蛋白合成が阻害され、細胞死に至る。実際、L-アスパラギナーゼ感受性とアスパラギン合成酵素の低活性は相関することが示されている。本研究でFAB分類M1、M4、M5のLD70^{asp}が低値であることが示されたが、これらのFABサブタイプにおけるアスパラギン合成酵素の活性は低値であることが報告されており、今回の結果を支持する知見と考えられる。白血球数が高い場合にLD70^{asp}が低値となることが示されたが、これはM1、M4、M5は白血球数が高値となるためと考えられた。これまでの我々の研究から、cALLにおいては、LD70^{asp}低値群または中間値群であれば臨床的に有効性を期待しうると考えられる。M1、M4、M5のLD70^{asp}低値群または中間値群が60%程度であったことは、L-アスパラギナーゼをこれらのFABサブグループにおける治療薬剤の候補とする根拠となると考えられる。

〔結論〕

AMLにおいて、FAB分類M1、M4、M5はL-アスパラギナーゼに高感受性であった。これらのFABサブタイプではL-アスパラギナーゼが有効な治療薬剤となる可能性がある。特にM1のL-アスパラギナーゼに対する感受性は、cALLと同程度である可能性がある。

論文審査の結果の要旨

L-アスパラギナーゼは、急性リンパ性白血病(ALL)の治療において最も重要な薬剤の一つである。急性骨髄性白血病(AML)においては、French-American-British (FAB)分類M5に対する有効性が報告されているが、他のFABサブタイプに対する有効性は不明である。多くの白血病治療薬と異なり、L-アスパラギナーゼは骨髄毒性が軽度であるという特徴を有しており、AMLにおける抗腫瘍効果を検討し、臨床使用の可能性を探ることは有意義と考えられる。そこで、申請者はAMLにおけるL-アスパラギナーゼに対する*in vitro*薬剤感受性・耐性を評価することとした。

common ALL (cALL) 患者177名、AML患者228名の診断時の骨髄または末梢血から得られた単核球を用いて*in vitro*におけるL-アスパラギナーゼの殺細胞率(LD70^{asp})を評価した。また、AMLをFABサブタイプ、性、初発時年齢、初発時白血球数により分類し、各群におけるL-アスパラギナーゼの効果を検討した。

結果は、cALLに比べAML全体ではL-アスパラギナーゼの有効性は低かった。AMLにおいて、FAB分類M1、M4、M5に対してはL-アスパラギナーゼの有効性が認められたが、M2、M3では有効性が認められなかった。性別、初発時年齢、初発時白血球数はL-アスパラギナーゼの有効性に影響を与えなかった。

これらの結果から、AMLにおいて、FAB分類M1、M4、M5ではL-アスパラギナーゼが有効な治療薬剤となる可能性が示された。

審査委員会は、AMLの一部のFABサブタイプにおけるアスパラギナーゼの有効性を示すデータを導きだし、臨床応用への道を開いたことを高く評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) *In vitro*感受性試験におけるnon-responderについて
- 2) *In vitro*感受性試験における薬物希釈濃度および細胞数調整について
- 3) アスパラギン合成酵素の活性測定法について
- 4) アスパラギン合成酵素活性と殺細胞効果および臨床効果について
- 5) 細胞分化とアスパラギン合成酵素について
- 6) FAB分類と白血球数について
- 7) L-アスパラギナーゼがAMLに対して耐性な理由について
- 8) FAB分類によるL-アスパラキナーゼの感受性の違いについて
- 9) L-アスパラキナーゼの副作用及び薬物動態について
- 10) L-アスパラキナーゼと他の抗がん剤との相互作用について
- 11) 統計学的検討について

これらの質問の対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梅	村	和	夫	
	副査	前	川	真	人	副査 大 西 一 功