




## 学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第738号	氏名	Wang Yu		
審査委員会委員	主査氏名	小林 隆志 			
	副査氏名	花田 俊勝 			
	副査氏名	白石 裕士 			
論文題目					
IMiD/CELMoD-induced growth suppression of adult T-cell leukemia/lymphoma cells via cereblon through downregulation of target proteins and their downstream effectors (ユビキチン付与 E2 酵素セレブロンによる免疫調節薬(IMiD/CELMoD)誘導性の標的タンパク質分解およびその下流エフェクター因子の抑制を介した成人T細胞白血病/リンパ腫細胞の増殖阻害効果)					
論文掲載雑誌名					
Frontiers in Oncology					
論文要旨					
<p>成人T細胞白血病(ATL)は、ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)感染に伴うT細胞由来の悪性新生物であり、予後が極めて不良である。レナリドミド(LEN; 第二世代免疫調節薬(IMiD))は、2017年以降、ATLに対する追加の治療選択肢として採用されているが、その作用機序は十分に証明されておらず、最近の研究では、長期IMiD療法を受けた患者における二次原発性悪性腫瘍の発生に関する新たな懸念が報告されている。本研究の目的は、IMiDを介した抗ATLメカニズムの解明である。18種類のATL関連細胞株をLEN感受性群とLEN抵抗性群に分けた。さらに、その中から2種類のLEN感受性細胞株とLEN抵抗性細胞株を選びだし実験に用いた。LENおよびセレブロン(CRBN)が介在する標的分子IKZF1およびIKZF3の分解を調べたところ、LEN抵抗性細胞株は元々IKZF1とIKZF3の発現レベルが高く、LENにより誘導されるそれらの分子の分解はLEN感受性細胞株でより顕著であることが示された。また、LEN感受性細胞株ではIRF4の発現低下も観察された。CRBNノックダウン(KD)によりLENの有効性が失われ、耐性細胞株ではIKZF2-KDによりIKZF1/3、IRF4ならびにcMycの発現低下を伴うLENによる細胞増殖の有意な抑制が観察された。DNAマイクロアレイ解析により、LEN感受性ATL細胞株とLEN耐性ATL細胞株とで、LEN処理後の転写変化が異なることが示された。すなわち、感受性細胞株ではサイトカイン経路や脂質代謝経路の増強が観察され、耐性細胞株では細胞周期やRNA経路の代謝が顕著であった。ATL細胞を移植した重症複合免疫不全(SCID)マウスにLENを経口投与したところ、腫瘍増殖に対する明らかな抑制効果も示された。最後に、新規のセレブロン・モジュレーター(CELMoD)であるイベルドミド(IBE)は、他のIMiD治療では観察されなかった効率的なIKZF2分解を伴い、ATL細胞に対してより広範で深い増殖抑制スペクトルを示した。これらの知見に基づき、本研究は、侵襲性および再発性ATLに対するIBEの新規治療上の利点を強く支持するものである。</p> <p>本研究は、近年注目されているIMiD/CELMoDに着目し、LENの抗ATLメカニズムの一端を解明し、新規CELMoDであるIBEの強い抗ATL効果を示した点は、生命科学の基盤的知見であると同時に、今後のATL治療への臨床応用にも波及する重要な知見であると考えられる。</p> <p>このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>					

# 最終試験 の結果の要旨 ~~学力の確認~~

審査区分 (課)・論	第738号	氏名	Wang Yu
審査委員会委員	主査氏名	小林 隆志 (印)	
	副査氏名	花田 俊勝 (印)	
	副査氏名	白石 裕士 (印)	

学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。

1. HTLV-1感染者のATL発症率5%と低い理由は？それに関わる宿主側、環境側の因子があるか？
2. 長期的IMiD療法を受けた患者に発症する二次的な原発癌は具体的にどのような癌か？  
また、どのような機序で癌が発症するのか？
3. HTLV-1の感染はT細胞特異的か？特異性はどのように生じるか？また、その受容体は何か？
4. LENはどのような分子機序で共刺激分子の発現を誘導するのか？また、それはCRBN依存的か？
5. 抗CCR4抗体のmogamulizumabは、どのようにしてATL細胞を殺すのか？  
抗体が結合した後、どのような免疫反応が起こるのか？
6. IKZF1/2/3の生理的機能は何か？発現は造血系の細胞のみなのか？
7. 転写因子IRF4のATL細胞における機能を説明しなさい。
8. 定量的RT-PCRにおいて、何を内的コントロールにおいて定量化したのか。
9. IKZF2はIKZF1/3の下流で誘導される分子か？LEN耐性ATL細胞はIKZF1の発現が高いことによってその抵抗性を示しているのか？それともIKZF2とIKZF1/3は独立と考えていいのか？
10. LEN刺激によるCRBNの発現上昇の分子機構を説明しなさい
11. ノックダウン実験のレンチウイルス感染の効率はどれくらいか？実験は何回行なったか？  
感染効率が低い場合、たまたまLEN抵抗性のHuT102細胞がとれてしまった可能性はないか？
12. LEN抵抗性の細胞では、LEN刺激によって腫瘍性およびアポトーシス抵抗性の遺伝子発現が誘導されるということだが、他のアポトーシス誘導性の薬の効果を打ち消してしまう可能性があるのではないか？
13. LEN耐性ATL細胞におけるIBE刺激によるIKZF2の分解は、ED40515では認められるがOATL4では観察されない。IBEにはIKZF2分解以外の分子機序が考えられるのではないか？
14. 生体におけるLENの腫瘍増殖抑制効果の実験では何を証明したかったのか？

これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 Wang Yu

## 論 文 題 目

IMiD/CELMoD-induced growth suppression of adult T-cell leukemia/lymphoma cells via cereblon through downregulation of target proteins and their downstream effectors

(和文)

(ユビキチン付与 E2 酵素セレブロンによる免疫調節薬(IMiD/CELMoD)誘導性の標的タンパク質分解およびその下流エフェクター因子の抑制を介した成人 T 細胞白血病/リンパ腫細胞の増殖阻害効果)

## 要 旨

**Purpose:**

Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) is an aggressive T-cell neoplasia associated with human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) infection and has an extremely poor prognosis. Lenalidomide (LEN), a second-generation immunomodulatory drug (IMiD), has been employed as an additional therapeutic option for ATL since 2017. However, its mechanism of action has not been fully elucidated, and recent studies have raised concerns about the development of second primary malignancies in patients undergoing long-term IMiD therapy. This study aims to elucidate the IMiD-mediated anti-ATL mechanisms and explore the potential of novel IMiD compounds, particularly iberdomide (IBE, a novel IMiD), as substitutes for LEN.

**Methods:**

To clarify the mechanisms of IMiD-mediated anti-ATL activity, 13 ATL-related cell lines and three types of IMiDs,

including LEN, pomalidomide (POM, a third-generation IMiD), and IBE were investigated using cellular biochemical analysis and bioinformatic approaches. The xenografted SCID mice were used to confirm LEN-mediated anti-ATL effectiveness in vivo.

### Results:

Among 13 ATL-related cell lines, HuT102 and TL-Om1 exhibited best response to LEN treatment and LEN-mediated functional modulation of E3-ubiquitin ligase cereblon (CRBN) induced degradation of hematopoietic-specific ikaros-family transcription factors IKZF1 and IKZF3 followed by suppression of their down-stream effectors IRF4 and c-Myc (both have been implied to promote ATL cell malignancy). While CRBN-knockdown in HuT102 imposed LEN-resistance, IKZF2-KD in LEN-resistant ED40515 induced LEN sensitivity. DNA microarray analysis on LEN-treated HuT102 and OATL4 (LEN-resistant) displayed distinct LEN-responding transcriptional profiles; restoration of immune competency for HuT102 and oncogenic growth promotion for OATL4 respectively. Oral administration of LEN to HuT102-xenografted SCID mice demonstrated significant reduction of tumor mass. Finally, comparison of anti-ATL effects among LEN, POM and IBE, revealed deeper and wider range of growth suppression to ATL cells only by IBE. IBE induced effective IKZF2 degradation as well as IKZF1/3.

### Discussion and conclusions:

LEN was found to suppress ATL cell growth both in vitro and in vivo through the degradation of IKZF1/3 and their downstream factors, IRF4 and c-Myc. The CRBN protein plays an essential role in LEN treatment by inducing ubiquitination and degradation of target proteins. The development of tolerance to LEN was attributed to the expression of IKZF2. Enrichment analysis showed that LEN-resistant cells exhibited upregulation of pathways related to cancer progression, whereas LEN-sensitive cells showed significant expression of immune response related pathways following LEN treatment. In contrast, IBE/CELMoD demonstrated a broader and more potent spectrum of ATL cell growth suppression, effectively degrading IKZF2 along with IKZF1/3. This superior efficacy was not observed with LEN and pomalidomide (POM).