

審査の結果の要旨

氏名：Nguyen Khanh Tri (グエン・カン・トリ)

本研究は、近年、フィラデルフィア陽性白血病に対する分子標的治療剤として華々しく登場したイマチニブ・メシレート (STI571, グリベック) の耐性問題に迫るべく、1) 臨床的に最も頻度の高い点突然変異である Thr315Ile 変異 (ABL 遺伝子 ATP 結合領域内の 315 番目のアミノ酸がスレオニンから、イソロイシンに変異したもの) を持ったイマチニブ耐性株：TCC-Y/T315I を樹立し、2) その耐性機序が他の要因には依らず、Thr315Ile 変異に基づくと考えられることを証明し、3) 本細胞株を用いて、各種の薬剤をスクリーニングした結果、デブシペプチド (FK228) が新規のイマチニブ耐性克服薬となり得ることを示したものである。要旨は以下の通りである (Part II)。

- 1) フィラデルフィア陽性急性リンパ性白血病患者より樹立された細胞株：TCC-Y をイマチニブ添加培養液で培養を続け、 IC_{50} イマチニブ = $15.9 \mu\text{M}$ (親株の 40 倍の IC_{50}) というイマチニブに高度耐性をもった耐性株：TCC-Y/T315I の樹立に成功した。TCC-Y/T315I 株はフィラデルフィア染色体を 1 個のみ保有する細胞集団であり、シーケンス解析の結果、この株は Thr315Ile の点突然変異を持っていることが判明した。この細胞株のイマチニブ耐性は極めて安定であり、イマチニブ無添加で 6 ヶ月培養を続けた後も IC_{50} や Thr315Ile 変異は不変であった。つまり、本耐性株はイマチニブ耐性克服を狙う新規薬剤開発の為のスクリーニング用材料として極めて有用である。
- 2) イマチニブ耐性をきたす機序には、ABL 遺伝子 ATP 結合領域内の点突然変異の他に、
 - 1) BCR/ABL 遺伝子のゲノム・mRNA・蛋白レベルでの増幅、2) MDR 遺伝子の発現亢進、などが知られている。そこで、これらの要因を本耐性株が含んでいるかどうかを検索した。その結果、①BCR/ABL 遺伝子はゲノム、mRNA、蛋白レベルのいずれにおいても、親株：TCC-Y に比べ、増幅していないこと、②MDR 遺伝子も発現していないこと、が判明した。つまり、本耐性株の高度イマチニブ耐性は Thr315Ile の点突然変異のみの由来すると考えられる。
- 3) イマチニブ耐性を克服すべく、TCC-Y/T315I 株を用いて、可能性のある新規薬剤を単

[別紙 2]

独で、またはイマチニブとの併用で相加-相乗的増殖抑制効果があるかどうかを検討した。その結果、デプシペプチド (FK228) は単独で TCC-Y/T315I 細胞の増殖を抑制すること、また、イマチニブとの併用では相加-相乗的増殖抑制効果を発揮することを見出した。つまり、FK228 やその誘導体は、単独またはイマチニブとの併用でイマチニブ耐性克服の治療薬となりうる可能性がある。

また、本研究とは独立した内容ではあるが、t(1;3)(p36;q26)転座を持つ未成熟巨核球細胞株：HIG-Meg の性状と両転座切断点の解析も行ない、以下の結果を得た (Part I)。

- ①HIG-Meg 株は PMA 添加培養によって、より成熟した巨核球系細胞へと分化する。
- ②1p36 切断点は sub-telomere 領域内、3q26 切断点は 3q25.3 の BAC クローン RP11-290K4 内であった。

WEB で公開されているゲノム情報に基づけば、これらの両切断点近傍には遺伝子は存在していない。これらの結果から、この白血病の病態に関与している遺伝子は *EVII* 遺伝子(3q26)や *MEL1* 遺伝子(1p36.3)ではなく、しかも転座切断点より離れた位置にあり、epigenetic effect により、病態に関与しているのではないかと推測される。

本研究は、イマチニブ耐性問題とその克服薬剤の開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値すると思われる。