

審査の結果の要旨

氏名 二見 宗孔

本研究は根治が極めて困難であることが知られる p190 bcr-abl 陽性白血病に対する新規の分子標的治療を開発する基礎研究として、レンチウイルスによる shRNA の遺伝子導入を用いた系にて p190 bcr-abl の発現抑制ならびに p190 bcr-abl 陽性白血病に対する抗腫瘍効果の誘導を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. p190 bcr-abl mRNA 上のそれぞれ bcr-abl 融合部位、bcr 部位、abl 部位を標的的部位として設計した 3 種類の shRNA は、いずれも p190 bcr-abl の発現を抑制できることが確認された。またレンチウイルスを用いると非常に効果的に標的細胞に shRNA を遺伝子導入できることが分かった。
2. bcr-abl 融合部位を標的とした shRNA は、p190 bcr-abl 陽性白血病細胞株に殺細胞効果を持つことが確認された。bcr 部位、abl 部位を標的とした shRNA は p190 bcr-abl 陽性、p210 bcr-abl 陽性、両方の白血病細胞株に対し殺細胞効果を持つことが示された。bcr 部位、abl 部位を標的とした shRNA は正常 abl、bcr の発現を抑制するものの、bcr-abl 陰性白血病細胞株には殺細胞効果を及ぼさなかった。しかし、abl 部位を標的とした shRNA はヒト造血前駆細胞のコロニー形成を阻害し、正常 abl の発現抑制による毒性が見られた。
3. p190 bcr-abl に対する shRNA (bcr-abl 融合部位、bcr 部位、abl 部位を標的とした shRNA いずれも)、は imatinib 耐性変異型 p190 を有する細胞株 Ba/F3-p190Y253H にも殺細胞効果を持つことが分かった。

4. shRNAを用いたp190 bcr-ablの発現抑制により影響を受けるbcr-abl下流のシグナル伝達経路をWestern Blot法により調べた結果、Stat5に対する影響が最も大きく、PI3K/Akt経路、Ras/MAPK経路への影響は比較的少ないことが分かった。p190 bcr-ablの発現抑制によりStat5のリン酸化が抑制されたがJak2のリン酸化は阻害されず、p190 bcr-ablによる Stat5のリン酸化がJak2非依存性になされることが示唆された。
5. p190 bcr-abl陽性細胞に対し増殖抑制作用を持つ薬剤であるimatinibや17-AAGは、shRNAを併用すると効果が増強することが分かった。shRNAによりp190 bcr-ablの発現量を下とすと、imatinib耐性細胞でも高用量のimatinib (1-5 μ M)に感受性を示すことがわかった。

以上、本論文はレンチウイルスを利用した shRNA の遺伝子導入が p190 bcr-abl 陽性白血病に対し抗腫瘍効果を持つ事を明らかにした。本研究は、これまで根治が非常に困難だった p190 bcr-abl 陽性白血病に対する分子標的治療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ものと考えられる。