

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Drug resistance to nelarabine in leukemia cell lines might be caused by reduced expression of deoxycytidine kinase through epigenetic mechanisms

白血病細胞株におけるネララビン耐性とエピジェネティックな機構によるデオキシシチジンキナーゼの発現低下について

日本医科大学大学院医学研究科 小児・思春期医学分野
大学院生 吉田 圭志

Cancer chemotherapy and pharmacology 第 89 巻 第 1 号 (2022) 掲載

薬剤耐性は白血病治療の主要な問題である。新たなプリンヌクレオシドアナログであるネララビンは T 細胞急性リンパ性白血病の治療に用いられている。本研究では、急性リンパ性白血病細胞株におけるネララビン耐性の獲得機序の解明とその克服について検討した。

B 前駆細胞系(BALL, NALM6)および T 前駆細胞系(Molt4, SKW3)の急性リンパ性白血病 4 細胞株に対してネララビンを持続的、段階的に暴露させ、ネララビン耐性株を作製した。ネララビン活性化に必要な酵素であるデオキシシチジンキナーゼ(dCK)の発現量を解析し、エピジェネティックな機序についてメチル化特異的 PCR (MSP)とクロマチン免疫沈降 (ChIP)法で解析した。ネララビン耐性株では dCK の発現量が低下していた。dCK 発現低下機序解明のため MSP 解析を実施したが、dCK プロモーター領域のメチル化は有意差を認めず、ChIP 法で dCK プロモーター領域に結合するヒストン H3, H4 のアセチル化が耐性株で低下していた。耐性の克服について、各細胞株を新たなヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるボリノスタットとともに 72 時間培養したところ、耐性株で減少した dCK 発現量は有意に増加した。ボリノスタットにより、耐性株で H3, H4 のアセチル化を増加させ、耐性株のネララビン細胞障害性を有意に増加させた。以上より、ヒストン脱アセチル化を含むエピジェネティックな機構がネララビン薬剤耐性・感受性に関わる遺伝子不活化に関与すること、またボリノスタットとの培養はネララビンの感受性を回復させることが示された。本研究は薬剤耐性の機序解明とその克服に新たな可能性を示すものと言える。

第二次審査では、エピジェネティクスに着目した理由、ボリノスタットの作用機序、ヒストン H3, H4 間の相違、他のヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の可能性、メチル化についての他の解析法の可能性、実臨床におけるネララビン耐性との比較などの質疑がなされ、いずれも適切な回答が得られた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。