

研究報告書  
令和2年度：A課題

2022年5月17日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 横浜市立大学医学部 血液・免疫・感染症内科

住 所 〒236-0035 神奈川県横浜市金沢区福浦 3-9

研究者氏名 國本 博義

(研究課題)

高リスク染色体異常を有する新規白血病細胞株を応用した抗がん剤耐性機構の解明

令和3年2月1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【目的】

3番染色体の逆位・転座(inv(3)/t(3;3))を有する骨髓異形成症候群・急性骨髓性白血病は高率に7番染色体の欠失(-7)を合併し、両者を有する患者群は5年生存率約0%と極めて予後が悪い。しかしinv(3)/t(3;3)と-7がどのように協調して抗がん剤に耐性を示す予後不良な白血病を発症させるのか、詳細な分子メカニズムは不明である。

本研究では、inv(3)/t(3;3)と-7の両者を有する白血病細胞がinv(3)/t(3;3)のみを有する細胞よりも強力な抗がん剤耐性、アポトーシス回避機構を有するのかを明らかにし、その分子基盤の解明を進める。申請者らが樹立したt(3;3)と-7を有する新規白血病細胞株 YCU-AML1 と患者検体を活用し、抗がん剤シタラビンが白血病細胞の生存、アポトーシス誘導に与える影響を調べる。

【方法】

inv(3)/t(3;3)と-7の両者を有する白血病細胞がinv(3)/t(3;3)のみを有する白血病細胞に比べて抗がん剤シタラビンに対して薬剤耐性を示すのか、アポトーシス回避を起こすのかを、各々の染色体異常を有する白血病細胞株並びに患者骨髓検体を駆使して *in vitro* の実験系で探索した。

### 【結果と考察】

本研究では、inv(3)/t(3;3)と-7を両方有する白血病細胞はinv(3)/t(3;3)のみを有する細胞に比べシタラビンに対してより強力な薬剤耐性を有するのではないかという仮説を立てた。本仮説を検証するため、まずinv(3)/t(3;3)単独株(MUTZ-3、Kasumi-3、HNT-34)、inv(3)/t(3;3)と-7を有する細胞株(YCU-AML1、OCI-AML20)をメチルセルロース培地上でシタラビン存在下に培養したところ、HNT-34並びにYCU-AML1はコロニー形成がみられた一方、MUTZ-3、Kasumi-3、OCI-AML20についてはコロニーがうまく形成されず、コロニー培養実験では抗がん剤感受性を正確に評価することが困難であった。そこでMUTZ-3、Kasumi-3、OCI-AML20については液体培養液を用いてシタラビン存在下に培養したところ、OCI-AML20とMUTZ-3についてはシタラビンに高い感受性を認めたのに対しKasumi-3はシタラビン耐性を示した。以上からinv(3)/t(3;3)のみを有する細胞に比べてinv(3)/t(3;3)と-7を有する白血病細胞の方がシタラビンへの耐性を示すという仮説は成立しないことが判明し、当初の研究計画からの修正を余儀なくされた。

そこでinv(3)/t(3;3)と-7を有する白血病細胞特異的に薬剤感受性を示す化合物を網羅的に探索するためにTocriscreen 2.0を用いて解析したところ、エピゲノム因子Xに対する阻害剤がinv(3)/t(3;3)と-7を有するYCU-AML1とOCI-AML20に特異的に高い感受性を示すことが確認された。Tocriscreen 2.0の結果を検証するため、YCU-AML1とOCI-AML20をエピゲノム因子X阻害剤存在下で液体培養した結果、賦形剤添加群に比べて有意に細胞増殖が抑制された。細胞増殖抑制効果の詳細な機序を解明するため、薬剤暴露後のYCU-AML1及びOCI-AML20細胞を用いてアポトーシス解析並びに細胞周期解析を行なったところ、エピゲノム因子X阻害剤添加群では賦形剤添加群に比べて有意にアポトーシス誘導分画(Annexin V<sup>+</sup> DAPI)の割合が増加した一方、細胞周期には著変はみられなかった。以上より、inv(3)/t(3;3)と-7を有する白血病細胞の生存はエピゲノム因子Xに高度に依存していると考えられ、新たな研究仮説を検証するべくさらなる研究を進めており、今年度内の論文投稿を目指している。

### 【本助成金関連の査読付き論文】

該当なし

### 【謝辞】

本研究の遂行にあたり多大なるご支援を賜りました、公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝申し上げます。