

Title	A novel mechanism for imatinib mesylate (STI571) resistance in CML cell line KT-1 : Role of TC-PTP in modulating signals downstream from the BCR-ABL fusion protein.
Sub Title	慢性骨髄性白血病細胞株KT-1における新たなイマチニブ(STI571)耐性化の機構 : BCR-ABL融合蛋白下流のシグナル伝達を修飾するTC-PTPの役割
Author	清水, 孝恒(Shimizu, Takatsune)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.2 (2005. 6) ,p.16-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050602-0016

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

A novel mechanism for imatinib mesylate (STI571) resistance in CML cell line KT-1 : Role of TC-PTP in modulating signals downstream from the BCR-ABL fusion protein.

(慢性骨髄性白血病細胞株KT-1における新たなイマチニブ (STI571) 耐性化の機構 : BCR-ABL融合蛋白下流のシグナル伝達を修飾するTC-PTPの役割)

清水 孝 恒

内容の要旨

論文審査の要旨

〔背景・目的〕 ABLキナーゼの特異的阻害薬であるイマチニブ (STI571) は慢性期の慢性骨髄性白血病 (CML) の第一選択薬として定着したが、その耐性症例は臨床的に問題である。我々はイマチニブ感受性CML細胞株KT-1より、イマチニブ耐性株KTRを樹立した。p糖タンパクの発現、bcr-ablキメラ遺伝子の増幅、ABLキナーゼのATP結合領域の点変異を検討したが、いずれもKTR細胞のイマチニブ耐性化の機序には関与していなかった。脱リン酸化酵素の中で、TC-PTPの著明な発現低下を認めたため、イマチニブ耐性獲得におけるTC-PTPの意義について検討した。

〔方法〕 KTR細胞に、TC-PTPのnuclear isoformであるTC45遺伝子と酵素活性を持たないTC45-D182A遺伝子をレトロウイルスにより導入した。MTTアッセイによりイマチニブに対する感受性を検討し、ウェスタンブロット法によりシグナル伝達経路を解析した。

〔結果〕 MTTアッセイでは、KTR-TC45細胞は0.2、0.5、1 μ MのSTI571暴露により37、74.2、89.3%の増殖抑制を認め、イマチニブに対する感受性を回復した。一方KTR-mock、KTR-D182A細胞では感受性の回復は見られなかった。flow cytometerを用いたapoptosis細胞の検討では、0.5 μ Mのイマチニブ刺激により、TC45導入細胞では、12%から56%まで増加し、アポトーシス誘導効果の回復を認めた。イマチニブ刺激による細胞内シグナル伝達機構について検討したところ、KTR-TC45細胞では、0.5 μ Mのイマチニブ刺激により野生型KT-1細胞と同様にSTAT5のリン酸化は完全に抑制された。一方、耐性を維持したKTR-mock、KTR-D182A細胞では、親株KTR細胞と同様にSTAT5のリン酸化は亢進しており刺激後もリン酸化が維持された。JAK2、BCR-ABLのリン酸化は遺伝子導入株間での差異は見られなかった。また、BCR-ABLの下流にあるPKB/AKT、JNK、ERK1/2の活性化状態を遺伝子導入株間で比較したが、差異は認められなかった。TC-PTPのmRNAの発現を半定量PCR法で比較したところ、親株KT-1と比べKTR細胞で低下がみられ、TC-PTPの蛋白発現の低下はmRNAレベルであることが示唆された。

〔結語〕 KTR細胞のイマチニブ耐性化にはTC-PTPの発現低下によるSTAT5のリン酸化亢進が関与していた。脱リン酸化酵素TC-PTPの発現低下は、CML細胞がイマチニブへの耐性化を獲得する新たな分子機構となり得る可能性が示唆された。

ABLの特異的チロシンキナーゼ阻害薬であるイマチニブは慢性骨髄性白血病 (CML) の治療薬であるが、治療中の耐性化獲得が臨床問題となっており、耐性化機構の解明は重要である。これまでに、bcr-abl遺伝子の増幅、bcr-abl遺伝子のキナーゼ領域の点突然変異、多剤耐性遺伝子産物の発現などが機序として報告されているが不明な点も多い。CML細胞株KT-1から樹立されたイマチニブ耐性KTR細胞には、既知の機序とは異なる耐性化機構の存在が示唆され、親株と比較してKTR細胞で発現が低下しているT cell protein tyrosine phosphatase (TC-PTP) に注目した。本研究において、TC-PTPを再構築することにより、KTR細胞のSTAT5リン酸化亢進が抑えられ、イマチニブ感受性を回復することを示し、TC-PTPの発現低下がイマチニブの新たな耐性化機構となり得ることを示唆した。

審査において、本研究で解明された耐性化機構が実際のイマチニブ耐性患者の中でどの程度存在するかがたずねられた。この点に関して、非常に重要な問題であると認識しているが本邦では欧米に比較し現在、耐性患者の検体が得られにくく解析することが困難であることが述べられた。また他の脱リン酸化酵素の発現低下がイマチニブ耐性化に関与するとの学会報告が引用され、TC-PTPの発現低下が実際に耐性に関与する可能性は高いと回答された。患者検体を用いた検討は今後の課題とされた。次に、KTR細胞のイマチニブ耐性化の程度が他の耐性株の報告より弱いことが指摘された。この点に関して、これまでの報告では本研究と異なる耐性化機構が上げられており、耐性化の程度の差異は耐性化機構の差異によるのではないかと回答された。またTC-PTPがSTAT5を直接の基質としているかがたずねられた。直接の証明はなされておらず報告により意見が割れているが、本研究においてTC-PTPとSTAT5の共沈を確認しており基質となる可能性を強く示唆すると回答した所、実際に結果を提示しその点により踏み込むと興味深かったとの助言があった。その他、p糖タンパクの発現亢進はKTR細胞のイマチニブ耐性化には関与しないとベラパミルの阻害実験により結論したが、サイクロスポリンなど別の阻害薬を試みるべきであるとの指摘、更に増殖抑制効果の解析ではMTT解析だけでなく実際の細胞数の推移を示すべきであるとの指摘があった。また、BCR-ABL下流のシグナル解析に関しては、AKT、JNK、ERK以外の検証も要すると指摘された。

以上のように、本研究では特に患者検体の解析も含め、さらなる検討を要する点が課題として残されているものの、分子標的治療薬の新しい耐性化機構の発見が新規性として認められ、臨床へのフィードバックの可能性と併せて有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫

先端医科学 河上 裕 発生・分化生物学 須田 年生

薬剤学 谷川原祐介

学力確認担当者：

審査委員長：河上 裕

試問日：平成17年 2月18日