

| | |
|------------------|---|
| Title | TEL/AML 1 Overcomes Drug Resistance Through Transcriptional Repression of Multidrug Resistance-1 Gene Expression |
| Sub Title | 白血病関連キメラ遺伝子TEL/AML1による薬剤耐性遺伝子(MDR-1)の発現抑制機構 |
| Author | 朝倉, 敬子(Asakura, Keiko) |
| Publisher | 慶應医学会 |
| Publication year | 2006 |
| Jtitle | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.83, No.2 (2006. 6) ,p.5- |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 号外 |
| Genre | Journal Article |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20060602-0005 |

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.

TEL/AML1 Overcomes Drug Resistance Through Transcriptional Repression of Multidrug Resistance-1 Gene Expression

(白血病関連キメラ遺伝子 $TEL/AML1$ による薬剤耐性遺伝子($MDR-1$)の発現抑制機構)

朝 倉 敬 子

内容の要旨

白血病の最も重要な予後因子として染色体異常、すなわち遺伝子異常のタイプが挙げられる。一方、白血病の薬剤耐性獲得機序の一つとして、多剤耐性遺伝子 (multidrug resistance-1 ($MDR-1$) 遺伝子) の高発現があり、 $MDR-1$ 遺伝子発現レベルの低い白血病症例は予後良好とされている。

予後良好な白血病に見られる染色体異常の一つに、急性骨髓性白血病 (AML) の $t(8;21)$ 転座がある。 $t(8;21)$ を有する白血病は化学療法に高い感受性を示す。この染色体異常により生じる $AML1/MTG8$ キメラ蛋白は転写因子の作用を有し、*in vitro* では $MDR-1$ 遺伝子の発現を抑制することが報告されている。同様に、化学療法高感受性で予後良好な白血病に、 $t(12;21)$ 転座を有する急性リンパ性白血病 (ALL) がある。この転座により $TEL/AML1$ キメラ遺伝子が生じるが、 $TEL/AML1$ 蛋白も転写因子として働くと考えられる。 $TEL/AML1$ 蛋白にも $AML1/MTG8$ 蛋白と同様に $MDR-1$ 遺伝子発現に対する抑制作用があるのではないかと予想し、検証を行った。

はじめに、 $TEL/AML1$ 蛋白の $MDR-1$ プロモーターへの結合を、ゲルシフトアッセイとChIPアッセイで確認した。 $TEL/AML1$ 蛋白は転写因子 $AML1$ のDNA結合領域を含んでおり、 $MDR-1$ プロモーター中の $AML1$ 結合配列に結合することが予想された。両方のアッセイにおいて、予想通り、 $TEL/AML1$ 蛋白が配列特異的に $MDR-1$ プロモーターに結合することが示された。さらに、K562細胞に $TEL/AML1$ 蛋白の発現プラスミドおよび $MDR-1$ 遺伝子のプロモーター領域をサブクローニングしたレポータープラスミドを導入し、ルシフェラーゼアッセイを行ったところ、 $TEL/AML1$ は $MDR-1$ 遺伝子の転写活性を、約50%に抑制した。また、 $TEL/AML1$ を強制発現させたアドリアマイシン耐性のK562/Adr細胞では、 $MDR-1$ 遺伝子産物であるP糖蛋白の発現量が低下した。K562/Adr細胞はP糖蛋白を恒常に強く発現しており、アドリアマイシンによる細胞死が起こりにくいが、 $TEL/AML1$ を強制発現させることで薬剤感受性が回復した。

臨床検体における $MDR-1$ mRNA量をreal-time PCR法で測定したところ、 $TEL/AML1$ 遺伝子を有する小児ALL症例においては、持たない症例と比較して $MDR-1$ mRNA量が低い傾向が見られた。

以上の結果より、 $TEL/AML1$ 蛋白による $MDR-1$ 遺伝子発現の抑制は、 $t(12;21)$ 転座を有するALLの化学療法高感受性、良好な予後を説明する一つの機序と考えられた。

論文審査の要旨

白血病の予後因子として、染色体異常は最も重要である。 $t(12;21)$ 転座の結果生じる $TEL/AML1$ 遺伝子を有する急性リンパ性白血病は、化学療法に対する感受性が高く予後良好であるが、この理由の一つが、 $TEL/AML1$ キメラ蛋白による多剤耐性遺伝子($MDR-1$ 遺伝子)の発現抑制であることが明らかにされた。 $TEL/AML1$ キメラ蛋白は $MDR-1$ 遺伝子のプロモーター領域にある $AML1$ 結合配列に結合し、転写抑制因子として機能していた。

審査では、まず、本研究で使用されているK562細胞への遺伝子導入の効率について質問された。造血器腫瘍の細胞株は浮遊細胞で遺伝子導入が困難なものが多く、導入効率は高くないことが予測された。ルシフェラーゼアッセイおよびウエスタンブロッティング、薬剤感受性回復の確認で遺伝子導入を行った細胞を使用している。いずれも $TEL/AML1$ 蛋白の有無による $MDR-1$ 遺伝子発現量の変化は、2倍程度であったが、導入効率が改善されれば、この変化がさらに大きく観察できる可能性が示唆された。また、臨床検体における $MDR-1$ mRNA量について $TEL/AML1$ 陽性症例と陰性症例で比較しているが、この場合、検体中の白血病細胞比率により、 $TEL/AML1$ の遺伝子発現に対する影響の強度が変わってくることが指摘された。研究の背景に関するところとしては、正常の $AML1$ や TEL の機能、 $TEL/AML1$ のleukemogenesisへの関与について質問があった。 $TEL/AML1$ はそれのみが存在するだけでは白血病を発症しないことがマウスの実験などで証明されており、 TEL のsecond hitが白血病化に必要であることが知られている。また、 $TEL/AML1$ と同様に $AML1$ を含む、 $AML1/MTG8$ キメラ蛋白の発現している細胞では、 $MDR-1$ 遺伝子の発現量が5分の1程度に抑制されるが、 $TEL/AML1$ 発現例では2分の1程度であり、この違いについて質問された。両キメラ蛋白とも $AML1$ 結合配列に結合し、転写因子として機能することは共通であるが、転写因子に結合するcofactor (この場合corepressor) に違いがあるためと考えられた。さらに、 $MDR-1$ 遺伝子の発現調節については明らかにされていない部分が大きく、研究中に使用された薬剤耐性細胞株の薬剤耐性の機序について確認されるべきであったこと、 $MDR-1$ 以外の薬剤耐性に関わる因子についての検討の必要性についても指摘された。

以上のように、本研究はさらに検討されるべき課題を残しているものの、急性白血病における特定の染色体異常と、抗癌剤高感受性という白血病の臨床的特徴との直接的な関連を示した点で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
発生・分化生物学 須田 年生 先端医科学 河上 裕
薬剤学 谷川原祐介

学力確認担当者 :

審査委員長：須田 年生

試験日：平成17年11月8日