

課題番号 11

プロセシングボディを介した癌細胞悪性形質維持機構の解明

[1] 組織

代表者：小嶋 克彦
(信州大学学術研究院医学系)

対応者：千葉 奈津子
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：
竹下 敏一 (信州大学学術研究院医学系)
天野 勇治 (信州大学学術研究院医学系)
吉野 和寿 (信州大学学術研究院医学系)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

細胞内 mRNP 顆粒の一種であるプロセシングボディ (以下、P-body) には、mRNA 分解を介した翻訳制御の場として知られている。P-body において分解をうける mRNA には特異性がみられ、例えばがん遺伝子であり細胞周期を制御する c-Myc はその代表である。

本研究では、白血病細胞の悪性形質維持における P-body の役割を明らかにする目的で、P-body 構成タンパク質 DDX6 及び Ataxin-2-like (ATXN2L) のノックダウンを Ph+CML 細胞株 K562 及び KU812 に対して行った。レンチウイルスによる shRNA 導入 4 日後には、両細胞株での細胞増殖の停止と Annexin V 陽性細胞の増加が観察された。更に導入 7 日後までに生存した細胞では、導入前の芽球様形態から分葉核や細胞内顆粒の増加を伴う細胞分化が認められた。特に ATXN2L ノックダウン白血病細胞株内での BCR-ABL 下流分子を含む細胞内シグナル伝達系への影響についてタンパク質、mRNA レベルで詳細に解析したので、以下の項にこれを示す。

所内対応者である加齢医学研究所腫瘍生物学分野千葉奈津子教授との研究打ち合わせについては3回ほど電子メールにて実施した。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

1. ATXN2L ノックダウンによる Ph+CML 細胞株の分化

実験に用いた細胞株 K562 及び KU812 細胞は表

面マーカー等の特徴からそれぞれ赤芽球・巨核球系細胞、及び幼若好塩基球様細胞であることが知られている。

ATXN2L-shRNA 導入 7 日後に生存する K562 細胞では巨核球マーカーである CD41、CD61 の発現亢進を、KU812 細胞では成熟好塩基球マーカーとして細胞内ヒスタミン及び β -hexaminidase の増加を認めた。

2. ATXN2L ノックダウンによる Ph+CML 細胞分化に伴う BCR-ABL 下流シグナル伝達分子の発現、活性化への影響

ATXN2L-shRNA 導入 7 日後の K562 (図 1) と KU812 細胞では、BCR-ABL とその下流分子 JAK2、STAT5 の発現が減少していた。また、骨髄系細胞の分化に関与する RUNX1 の発現が減少していた。更に、細胞内シグナル伝達系において ERK と NF κ B 経路の活性化を認めた。

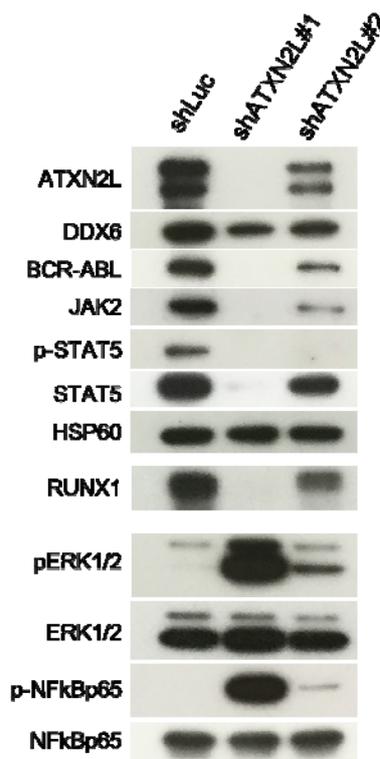


図 1 ATXN2L-shRNA 導入 7 日後の K562 細胞のウェスタンブロット解析

一方、細胞内 mRNA を定量したところ、STAT5、RUNX1、c-Myc は ATXN2L ノックダウンとの連動が認められたが、BCR-ABL では mRNA の変動は見られず (図 2)、タンパク質レベルでの安定性といった間接的な影響が示唆された。

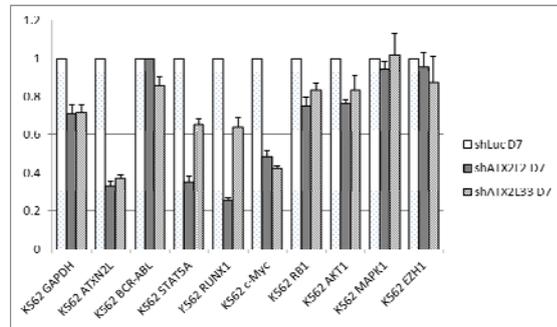


図2 ATXN2L-shRNA 導入 7 日後の K562 細胞における細胞内 mRNA 定量

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究の結果は、P-body を介した遺伝子発現制御が白血病細胞の分化状態を規定する上で重要な役割を果たすことを示唆するものである。また、間接的ではあるがドライバー遺伝子産物 BCL-ABL の発現への影響は、P-body 構成分子の白血病細胞治療標的としての可能性を与えるものと考えられる。代表者は現在 AML、CML 患者由来 CD34 陽性細胞を用いた解析を行うべく、信州大学医学部血液内科との共同研究を進めている (信州大学医学部遺伝子解析倫理委員会承認済 試験番号 623)。

[4] 成果資料

関連学会発表

1. プロセシングボディ蛋白質 ATXN2L は CML 細胞の前駆細胞性を維持する (P-1109)

第 77 回 日本癌学会学術総会

2018 年 9 月 27 日 大阪