

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (人間健康科学)	氏名	増田 達哉
論文題目	RUNX1 transactivates <i>BCR-ABL1</i> expression in Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia (RUNX1はフィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病において <i>BCR-ABL1</i> の発現を転写制御する)		
<p>(論文内容の要旨) 【背景】フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病 (Ph<sup>+</sup>ALL) は、9番染色体と22番染色体の相互転座に伴うBCR-ABL1チロシンキナーゼが活性化されることで発症する。チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) の開発により、Ph<sup>+</sup>ALL患者の予後は大幅に改善された。しかしながら、一部の患者は、主に<i>BCR-ABL1</i>のキナーゼドメインにおける点突然変異の獲得により、TKI療法に対する耐性を示す。転写因子RUNX1の発現上昇が、同じくBCR-ABL1タンパクによって発症する慢性骨髄性白血病患者の予後不良と密接に相関していることが報告されている。新規のRUNX阻害剤Chb-M' は、RUNXファミリー転写因子に共通するコンセンサス配列5' -TGTGGT-3' を標的として結合するPyrrole-Imidazole Polyamide (PIP) を、アルキル化剤であるクロラムブシル (Chb) で修飾した薬剤である。Chb-M' はRUNXファミリー標的遺伝子群の発現を抑制 (スイッチオフ) することが可能である。本研究では、RUNX1によるBCR-ABL1の転写制御メカニズムを解明し、Chb-M' のPh<sup>+</sup>ALLに対する抗腫瘍効果について検討した。【方法】まず、<i>ABL1</i>遺伝子のT315I点突然変異によりイマチニブ耐性を獲得したPh<sup>+</sup>ALL由来SU/SR細胞を用いて、ドキシサイクリン誘導性<i>RUNX1</i>ノックダウン細胞株を樹立し、<i>in vitro</i>及び<i>in vivo</i>実験において、細胞増殖実験を実施した。次に、RUNX1とBCR-ABL1間の直接的な転写制御機構を、BCR-ABL1の発現解析、ChIP-PCRアッセイ、及びルシフェラーゼレポーターアッセイにて検討した。次に、クロラムブシルを修飾していないRUNX共通コンセンサス配列を標的とするPIP (Simple-M' ) を用いて、<i>BCR</i>遺伝子プロモーターにおけるSimple-M' の特異的結合をChIP-PCRアッセイにて検討した。さらに、Ph<sup>+</sup>ALL細胞に対するChb-M' のIC50値を測定し、BCR-ABL1の発現を解析した。最後に、Ph<sup>+</sup>ALL再発患者由来のpatient-derived xenograft (PDX) 細胞をNOGマウスに移植し、生体内におけるChb-M' の効果を検証した。【結果】SU/SR細胞において<i>RUNX1</i>を特異的ノックダウンすると、細胞増殖能が著明に低下した。またNOGマウスへの尾静脈移植モデルにおいて、<i>RUNX1</i>ノックダウンにより、末梢血中のPh<sup>+</sup>ALL細胞の割合が低下し、有意に生存期間が延長した。次に、<i>RUNX1</i>ノックダウンはBCR-ABL1の発現を有意に抑制し、RUNX1が<i>BCR</i>遺伝子プロモーター中の5' -TGTGGT-3' に特異的に結合し、<i>BCR-ABL1</i>を直接に正に転写制御することを確認した。次に、Simple-M' は用量依存的に<i>BCR</i>プロモーターへのRUNX1の結合を阻害した。また、Chb-M' はSU/SR細胞に対して、BCR-ABL1の発現を著明に抑制し、イマチニブよりも高い抗腫瘍効果を示した。さらに、Ph<sup>+</sup>ALL PDX細胞を使用した<i>in vivo</i>実験において、Chb-M' はコントロールと比較して骨髄中の腫瘍増殖を著明に抑制した。【結語】Ph<sup>+</sup>ALL細胞においてRUNX1を抑制すると、BCR-ABL1の転写抑制を介してTKIに対する耐性を克服できる可能性が示唆された。さらに、RUNX阻害剤Chb-M' は、TKIに耐性を獲得したPh<sup>+</sup>ALL患者の治療における有望な薬剤となる可能性が示唆された。</p>			

( 続紙 2 )

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病 (Ph<sup>+</sup>ALL) は、9番染色体と22番染色体の相互転座により形成されるBCR-ABL1融合蛋白の持続的なチロシンキナーゼの活性化により発症する。BCR-ABL1のキナーゼドメインにおいて点突然変異が生じると、Ph<sup>+</sup>ALLはチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) に対する耐性を示す。申請者は、まずTKIであるイマチニブに耐性となったPh<sup>+</sup>ALL由来の細胞株において、転写因子<i>RUNX1</i>を特異的にノックダウンすると、細胞増殖能が著明に低下することを見出した。RUNX1は<i>BCR</i>遺伝子のプロモーター中のRUNXコンセンサス結合配列5' -TGTGGT-3' に特異的に結合し、<i>BCR-ABL1</i>の転写を促進した。一方、新規のRUNX阻害剤Chb-M' は同細胞株においてBCR-ABL1の発現を顕著に抑制し、イマチニブよりも高い抗腫瘍効果を発揮することを示した。さらに、イマチニブ耐性のPh<sup>+</sup>ALL再発患者由来異種移植 (PDX) 細胞を使用したマウス実験により、Chb-M' が骨髄中の腫瘍増殖を著明に抑制することを示した。以上により、RUNX1がPh<sup>+</sup>ALLにおけるBCR-ABL1の転写の活性化を担っており、RUNX阻害剤Chb-M' が、<i>BCR-ABL1</i>のキナーゼドメインの遺伝子異常によりTKIに耐性を獲得したPh<sup>+</sup>ALL患者に対する有望な治療薬となる可能性を示した。</p> <p>したがって、本論文は博士 (人間健康科学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、2024年1月25日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
--

要旨公表可能日： 年 月 日以降