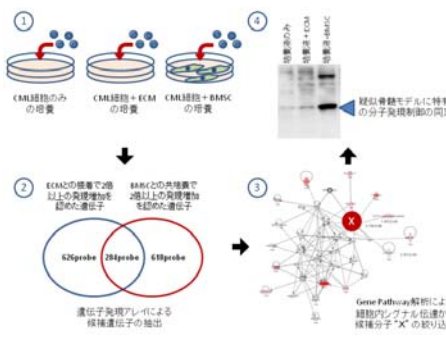


様式

若手研究者育成支援費に係る研究成果報告（ホームページ用）

	(所 属)	(職 名・学 年)	(氏 名)
研究者	内科学 血液・腫瘍内 科部門	学内講師	黒田純也
研究の 名称	造血器悪性腫瘍における腫瘍環境由来治療抵抗性獲得の分子メカニズム解明と新規分子標的の探索		
研究のキ ーワード	慢性骨髄性白血病、骨髄腫瘍環境、Galectin-3		
研究の 概要	<p>近年、造血器悪性腫瘍における疾患特異的な分子異常を標的とした様々な新規分子標的薬が開発され、治療成績は飛躍的に改善した。慢性骨髄性白血病(CML)では、原因遺伝子異常である Bcr-Abl 融合チロシンキナーゼを分子標的とした特異的阻害剤(TKIs)の開発と臨床導入により著しく治療予後は改善された。しかしながら、現有の分子標的治療薬による完治はいまだに困難であり、更なる分子標的の探索と薬剤の開発は喫緊の課題である。</p> <p>造血器腫瘍細胞は生体内で棲息する骨髄間質細胞や骨芽細胞、破骨細胞などとの接着、ケモカイン、サイトカインなどの骨髄微小環境による刺激、低酸素環境による代謝や分子発現調節などの普遍的構成要素である骨髄環境構成因子の支持・庇護のもとに生存・増殖しており、これらによる細胞生存促進シグナルの活性化、抗癌剤抵抗性獲得が注目されてはじめた。本研究では主たる腫瘍環境構成因子である骨髄間質細胞、細胞外マトリクス(ECM)との相互作用によって造血器腫瘍の治療抵抗性を特異的に促進する分子メカニズムを網羅的に探索・解明と、その制御法による新規の分子標的治療法の確立を目指す。</p>		
研究の 背景	<p>研究者らはこれまでCMLにおけるBcr-Abl TKIによるアポトーシス誘導における責任分子Bimの同定(PNAS 2006, Cell Death Differ 2007)やオートファジーの意義(Cell Death Differ 2008),TKI治療における骨髄腫瘍環境の低酸素状態がもたらす意義(Cell Death Differ 2010)、骨芽細胞の役割 (Leuk Res 2010) などについて研究を重ねてきた。これらの研究成果を礎に、完治を目指す分子標的治療の確立に向けて、更に骨髄腫瘍環境がCML細胞に及ぼす分子制御と病態形成、治療抵抗性との関連を明らかにすることの重要性が示唆されるにいたった。</p>		

研究手法	<p>本研究は下記の①-④について段階的に研究を進める。</p> <p>① <i>In vitro</i> 骨髓環境モデルでの造血器腫瘍細胞における骨髓微小環境誘導性特異的分子制御の網羅的検討と、薬剤耐性獲得をもたらす分子制御メカニズムの候補の同定</p> <p><i>In vitro</i> 疑似骨髓モデル、すなわち骨髓間質細胞 (bone marrow stromal cell; BMSC) や細胞外マトリクス(extracellular matrix: ECM) 存在下での CML 細胞における遺伝子発現プロファイル、分子制御を網羅的に検討する。既にわれわれは予備的検討において、<i>in vitro</i> での通常培養液による細胞培養条件と比較して、BMSC との共培養した場合や、ECM であるフィブロネクチンに接着させた条件下において、白血病細胞での遺伝子発現プロファイルを通常の培養液のみでの培養条件での同一細胞のそれと比較したところ、ECM との接着、BMSC との共培養において 2 倍以上の発現上昇を認めた遺伝子をそれぞれ 890、902 個ずつ認め、両条件において重複、かつより増幅する遺伝子を 284 個認めた。一方、0.5 倍以下に発現低下を認めた遺伝子は前者において 550 個、後者において 563 個認め、両条件において重複、かつさらに低下する遺伝子を 215 個認めた。ECM、ならびに BMSC は骨髓微小環境の構成において共存、かつ、不可欠な因子であることから、上記の両培養条件において共通して発現変化を認め、かつ相加・相乗的な発現上昇・低下といった支配を受ける遺伝子群 (すなわち前者として 284 遺伝子、後者として 215 遺伝子) を抽出し、それぞれの相関関係を細胞内シグナルパスウェイ検索で解析したところ、複数のシグナル経路の関与が明らかになっている (図)。</p>  <p>② ①で抽出された標的候補分子の機能と薬剤耐性獲得における意義の検討</p> <p>標的候補分子の遺伝子導入、RNA 干渉、阻害剤などによる検討を行い、その薬剤耐性、ならびに腫瘍環境による制御の意義を細胞死アッセイなどにより検討する。</p> <p>③ ②で同定された標的分子の <i>in vivo</i> での造血器腫瘍細胞における機能的意義の検討</p> <p>マウス疾患モデルの検討により標的候補分子の <i>in vivo</i> 機能について明らかにする。具体的には標的遺伝子の導入細胞、あるいはノックダウン細胞の免疫不全マウスへの移植生着効率、ならびにマウス疾患モデルでの薬剤感受性について検討する。</p>
------	---

	<p>④ 患者検体の検討による本研究で同定された標的分子の治療における臨床的意義の検討</p> <p>臨床検体における本研究の標的分子の発現を検討し、臨床経過との対比を行うことで臨床的意義を明らかにする。</p>
研究の進捗状況と成果	<p>上記研究方法に示した①—③が完了した。本研究によりCML細胞において腫瘍環境結誘導性にGalectin-3の発現が誘導され、細胞増殖、多剤抵抗性、骨髄での棲息、造血成長因子への細胞遊走など多彩な細胞機能を促進する中心分子として機能することが明らかになった。現在、④について研究をさらに継続中である。</p>
地域への研究成果の還元状況	<p>現段階では直接的な地域への研究成果の還元には至っていない。本研究では、Galectin-3の治療分子標的としての意義を明らかにすることが期待できるので、将来的に新たな治療法開発をもたらすべく広く社会に還元できるよう、さらに研究を継続中である。</p>
今後の期待	<p>CMLのTKI治療におけるGalectin-3の生物学的マーカーとしての有用性、ならびに治療抵抗性克服のための新規治療標的分子としての意義の確立が期待される。</p>
研究発表	<p>2011年3月現在、論文投稿中である。</p> <p>また、以下のごとく学会発表、研究会発表をすでに行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Yamamoto M, Kuroda J, Nagoshi H, Kobayashi T, Sasaki N, Shimura Y, Horiike S, Taniwaki M. Galectin-3 in leukemia microenvironment-mediated drug resistance in MYL cells, a leukemic cell line. 第72回日本血液学会学術集会. 2010年9月24-26日(横浜)</li> <li>2. 黒田純也. Towards the cure of CML. 第6回福井血液疾患カンファレンス. 平成22年10月18日(福井)(2010)</li> </ol>