

学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 乙 生命医科学専攻 病態解明医学講座 小児発達医学分野	氏 名	櫻井 直人 <small>さくらい なおと</small>
-----	---	-----	----------------------------------

主論文の題名

Role of microRNAs in glucocorticoid-resistant B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia

主論文の要旨

急性リンパ性白血病 (ALL) の治療において、グルココルチコイド (GC) は重要な治療薬であり、治療初期の反応性が予後に影響するが、そのメカニズムは不明な点が多い。本研究では、B 前駆型白血病細胞株 (697、MB-YU、REH) を用いて GC による細胞死誘導機序を検討した。

697 細胞株にデキサメタゾン (DEX) の投与を行ったところ、100nM 以上の濃度でアポトーシスを認めた。REH 細胞株では、1 μ M 投与しても増殖の抑制は認めなかった。

697 細胞株に DEX の投与を行い、GC レセプター α (GR α)、ミトコンドリアでアポトーシスの制御を行う Bcl-2 蛋白ファミリーである BIM の mRNA や蛋白の発現を RT-qPCR やウエスタンブロットで調べると、mRNA と蛋白の発現が上昇していた。また BIM を介して、カスパーゼなどが活性され、アポトーシスが誘導された。DEX 耐性であった REH 細胞株では、DEX 投与後も GR α 、BIM の発現の上昇は、mRNA と、蛋白の両方で認めなかった。

DEX 感受性のある 697 細胞株に少量の DEX を加えて培養し、その薬剤濃度を徐々に上昇させることにより DEX 耐性株を樹立し 697DR と名付けた。

697DR 細胞株の GR α や BIM の mRNA の発現量や GR α 蛋白の発現量を調べたところ、697 細胞株に比べ mRNA や蛋白の発現量は低下していた。

MicroRNA (miRNA) は遺伝時の発現の調節に関与している。miR-142-3p は GR α の発現に関与し、miR-17~92 クラスターは BIM の発現に関与していることが知られている。作成した DEX 耐性である 697DR 細胞株と REH 細胞株の miR-142-3p、miR-17~92 クラスター (miR-17-5p、miR-18a-5p、miR-19a-5p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p) の発現量を 697 細胞株と比較してみた。697DR 細胞株では、miR-142-3p、miR-17-5p、miR-18a-5p、miR-19a-5p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p 全ての miRNA で発現の上昇を認めた。REH 細胞株では、miR-17-5p、miR-18a-5p、miR-19a-5p では発現の上昇を認めたが、miR-142-3p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p で発現の上昇は認めなかった。

DEX 感受性のある MB-YU 細胞株から同様に DEX 耐性である MB-YUDR 細胞株を樹立できた。MB-YUDR 細胞株でも、GR α 、BIM の mRNA の発現、GR α の蛋白発現は低下していた。同様

に miR-142-3p、miR-17~92 クラスター (miR-17-5p、miR-18a-5p、miR-19a-5p、miR-19b-3p、miR-20a-5p、miR-92a-3p) の発現量を MB-YU 細胞株と比較したところ、すべての miRNA の発現量が増加していた。

本研究にて B 前駆型白血病細胞で認める GC 耐性の原因として、miR-142-3p、miR-17~92 クラスターの発現が関与している可能性があることが示唆された。