

分子遺伝学研究所

部長・教授：山田 尚 分子腫瘍学

研究概要

I. 細胞増殖制御機構を基盤とした疾病の病態解明と治療法の開発

細胞の分化・増殖および細胞死の制御機構を解明することは様々な疾患の病因解明や診断法の開発、さらには新規治療法の開拓上、極めて重要な点である。我々の研究部の目標はこれらの問題を分子生物学的に解明することである。

1. 白血病細胞の系統転換

様々な悪性腫瘍において腫瘍幹細胞の存在が示されている。白血病治療においても白血病幹細胞の根絶が重要な目標である。しかし、白血病幹細胞を証明することは出来ても、それを特定することは極めて困難である。そもそも、白血病細胞の形質がどこまで安定であるかは疑問である。白血病細胞はレチノイン酸やその他の低分子化合物によって分化誘導が可能な場合がある。しかし、一部の場合を除いて、*in vivo*における白血病細胞の血球分化系統転換を示すことは難しい。急性巨核芽球性白血病株細胞 JAS-R はこの疑問に対して答えをくれそうである。我々は JAS-R 細胞が増殖環境マトリックス蛋白質とインテグリンを介した接着によりその性質を変化させることを見出した。すなわち、この細胞は接着刺激によって血球分化系統に転換を誘導することが出来る。このことは、通常の診断に用いられる末梢血白血病細胞とは生物学的に異なった性質を有する細胞が生体内に存在する可能性を示唆している。重要なことは、接着細胞の性質が分化形質のみではなく薬剤耐性にも関与しているらしく、再発の重要な鍵を握っていることである。現在、これらの分子基盤の解明に取り組んでいる。

2. 白血病治療法の開発

白血病化の特徴の一つは転写調節機構の破綻である。転写調節は主としてヒストンのアセチル化を介したクロマチン・リモデリング機構でなされている。そこで、ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬(HDACI)はこれからの有効な治療薬の一つとして期待がもたれる。我々は、HDACI の一つである, depsiptide (FK228) について、その耐性化機構を研究している。慢性骨髄性白血病由来の KU812 細胞より FK228 耐性株を分離し、その耐性機構を研究中である。耐性株細胞では多剤耐性に関与する MDR1 遺伝子の

過剰発現が誘導されていた。しかし、耐性細胞では高度にヒストンのアセチル化が起こっており、MDR1 遺伝子のみでは耐性の説明がつかない。マイクログレイによる検討の結果、耐性に関与する可能性が高い遺伝子が複数個同定され、現在それらの遺伝子と耐性の関連を検討している。

II. 抗腫瘍薬の作用機序とその増強

1. DNA Topoisomerase I (Top1) 阻害薬

Top1 は DNA の複製や転写調節に重要な働きを持つ酵素である。現在、Top1 を分子標的とする複数の抗腫瘍薬が開発され、固形腫瘍を中心に広く臨床応用されている。我々は大腸がん由来の DLD1 細胞を用いて、Top1 阻害薬 SN38 に対する耐性株を作成した。この耐性株細胞における Top1 遺伝子の変異を検討した結果、新たな変異を獲得していることが判明した。この耐性細胞では他のアレルには欠失があるため Top1 活性は著しく低下している。現在、この新たな変異と他の Top1 阻害薬との関連を検討している。

2. テロメラーゼ阻害薬

テロメアは染色体末端に存在する核酸・蛋白質の複合体で、染色体断端の DNA を保護する重要な働きを有している。また、テロメア長の短縮は細胞の老化や細胞死とも関連することから悪性腫瘍治療に於ける分子標的となる可能性が示されている。テロメアはテロメラーゼによって維持されるが一般に腫瘍細胞ではテロメラーゼ活性が強い。TMPyP4 はテロメア DNA と安定な構造を作り、テロメラーゼ活性を抑制することから、抗腫瘍薬としての可能性が期待される。そこで、本薬剤の抗腫瘍効果について更なる検討を加えるために、テロメラーゼの触媒遺伝子を導入した細胞とその親株を用いて作用機序を検討している。現在までの研究で本薬剤による殺細胞効果にテロメア長、テロメラーゼ活性は影響していないことが判明している。このため新たな作用基盤について検討している。

「点検・評価」

I. 点検

1. 研究の現状

白血病細胞の生物学的な特徴とその分子基盤を解明し、治療方法を開発することを目指して研究を進め、増殖環境と白血病細胞の系統転換に関して成果を得た。また、分子標的治療薬とその耐性機構の解明、およびその克服に関しても成果を挙げることが出来た。

2. 学内への貢献

DNA シーケンシング, DNA による個体識別検査, および遺伝子発現に関するマイクロアレイ解析, さらに一般研究員の募集を通して学内への貢献を果たしてきた。解析依頼は1万件を超える現状となった。今後は精度を保ちながら効率をさらに引き上げたいと考えている。

3. 教育

教育は大学院生が中心であった。研究指導から論文の指導まで, 十分な教育ができたと考えている。学部学生に対する教育は, 講義および少人数に対するものが中心であった。

II. 評価

今年度も研究・教育・学内よりの受託業務の各分野において成果を得ることができたと考えている。今後はより直接的に社会に貢献できる具体的な研究成果を挙げる必要があると考えている。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Akiyama M, Yamada O, Yanagisawa T, Fujisawa K, Eto Y, Yamada H. Analysis of telomerase activity and RNA expression in a patient with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46(4): 506-11.
- 2) Yamada H, Arakawa Y, Saito S, Agawa M, Kano Y, Horiguchi-Yamada J. Depsipeptide-resistant KU812 cells show reversible P-glycoprotein expression, hyper-acetylated histones, and modulated gene expression profile. *Leukemia Res* 2006; 30(6): 723-34.
- 3) Yokoi K, Akiyama M, Yanagisawa T, Takahashi-Fujigasaki J, Yokokawa Y, Mikami-Terao Y, Fukuoka K, Fujisawa K, Nakazaki H, Oi S, Eto Y, Yamada H. Sequential analysis of cadherin expression in a 4-year-old girl with intracranial ependymoma. *Child Nerv Syst* 2007; 23(2): 237-42.
- 4) Sekikawa T, Takahara S, Suzuki H, Takeda N, Yamada H, Horiguchi-Yamada J. Diffuse large B-cell lymphoma arising independently to lymphoplasmacytic lymphoma: a case of two lymphomas. *Eur J Haematol* 2007; 78(3): 264-9.

II. 総説

- 1) 山田 尚. 分子標的薬の作用メカニズムと腫瘍細胞の個性. *慈恵医大誌* 2006; 121(3): 105-18.

- 2) 山田 尚, 鈴木英明, 荒川泰弘, 山田順子. 急性骨髄性白血病発症のメカニズム. *成人病と生活習慣病* 2007; 37(2): 220-3.

III. 学会発表

- 1) 山田順子, 山田 尚. 巨核芽球性白血病株細胞 JAS-R の樹立と血球の分化からみた特徴. 第65回日本癌学会総会. 横浜, 9月.
- 2) 荒川泰弘, 齊藤 忍, 鈴木英明, 山田 尚. MLL1-IP の発現と細胞内局在について. 第65回日本癌学会総会. 横浜, 9月.
- 3) 山田順子, 荒川泰弘, 齊藤 忍, 阿川美幸, 山田 尚, 関川哲明. 巨核芽球性白血病株細胞の接着刺激に伴う遺伝子発現変化. 第68回日本血液学会総会. 福岡, 10月. [臨血 2006; 47(9): 1159]
- 4) 秋山政晴, 寺尾陽子, 柳澤隆昭, 藤沢康司, 阿川美幸, 齊藤 忍, 山田 修 (東京女子医大), 山田 尚. 小児急性リンパ性白血病におけるステロイドの作用機序の解析. 第68回日本血液学会総会. 福岡, 10月. [臨血 2006; 47(9): 1225]
- 5) 中武真由香¹⁾, 秋山政晴, 川内喜代隆¹⁾, 山田 尚, 泉二登志子¹⁾, 山田 修¹⁾ (東京女子医大). K562細胞の巨核球計分化誘導に伴うテロメラーゼの調節メカニズム. 第68回日本血液学会総会. 福岡, 10月. [臨血 2006; 47(9): 1157]
- 6) 高原 忍, 山田順子, 関川哲明, 山崎泰範, 山田 尚, 薄井紀子. Lymphoplasmacytic Lymphoma と異なる細胞由来の Diffuse Large B-cell Lymphoma を併発した症例. 第48回日本臨床血液学会総会. 福岡, 10月. [臨血 2006; 47(9): 1127]
- 7) 齊藤 忍, 荒川泰弘, 山田 尚. カンプトテシンとヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (depsipeptide) の相乗効果. 第123回成医会総会. 東京, 10月.
- 8) 阿川美幸, 山田 尚. STR 多型を利用したヒト培養株細胞の管理. 第123回成医会総会. 東京, 10月.