

審 査 結 果 の 要 旨

論文題目「RUNX3 AS A DOWNSTREAM SIGNAL OF FLT3-ITD CONFERS
ARA-C RESISTANCE IN LEUKEMIA CELLS」

(FLT3-ITD 下流シグナルとして同定した RUNX3 による白血病細胞の
ARA-C 耐性化に関する研究)

学位申請者 Damdinsuren Anar

本論文は、予後不良である Fms 様チロシンキナーゼ 3 (FLT3) 遺伝子の internal tandem duplication 型変異 (FLT3-ITD) を有する急性骨髄性白血病 (AML) において認められるシトシンアラビノシド (Ara-C) 耐性の分子機構の解明を行い、FLT3-ITD を有する白血病細胞における転写因子 RUNX3 の発現亢進が Ara-C 耐性に密接に関連することを明らかにした論文である。

FLT3-ITD は、AML 症例の約 30%に認められる遺伝子変異で、代表的な予後不良因子の一つとみなされているが、治療に抵抗性を示す分子メカニズムについては不明な点が多い。そこで本研究では、FLT3-ITD を形質導入した白血病細胞株ならびに内因性の FLT3-ITD を有する白血病細胞株や AML 症例由来白血病細胞を用いて、FLT3-ITD と薬剤耐性との関連性について検討を行った。その結果、①FLT3-ITD を有する白血病細胞においては転写因子 RUNX3 の発現が亢進するとともに Ara-C に対して耐性を示すこと、②チロシンキナーゼ阻害薬を添加して FLT3 活性を低下させると RUNX3 の発現が低下すること、③RUNX3 をノックダウンさせると Ara-C に対する耐性が著しく低下すること、等を見出し、以上より FLT3-ITD に基づく RUNX3 の発現亢進が FLT3-ITD 陽性 AML の薬剤抵抗性に密接に関連することを明らかにした。これらの知見は、予後不良の FLT3-ITD 陽性 AML のさらなる病態解明や、今後の治療戦略開発のうえで、大きく寄与するものと期待できる。

本論文に対して、各審査委員から次のような質疑がなされた。

- 1) K562/FLT3-ITD と K562/mock での遺伝子発現プロファイル解析で、cytarabine の transporter である ENT1・活性化酵素である deoxycytidine kinase・不活化酵素である cytidine deaminase・標的酵素である DNA polymerase などの発現に有意な変化は認められなかったのか？
- 2) K562/FLT3-ITD で誘導された cytarabine に対する 10 倍の耐性度は、RUNX3 だけでなく transporter の発現低下など他因子との複合的な要因による phenotypic change と考えてよいのか？
- 3) 臨床検体において、cytarabine の感受性は検討していないのか？ また、治療反応性など実際の臨床経過・予後はどうであったのか？
- 4) 分子標的やマーカーとしての RUNX3 の有用性について、今後の展望をどう考えるか？
- 5) K562 細胞に対する遺伝子導入実験において FLT3-ITD と mock infection の比較によって Ara-C の耐性や RUNX3 の遺伝子発現が上昇したとしているが、これらの現象は ITD に特異的なものではなく、FLT3 遺伝子の導入によっても見られる現象なのではないか？

- 6) 他の細胞(例えば fibroblast においても同様な現象がみられるのではないか？
- 7) Ara-C の作用点に関する酵素の発現に変化があまりないとすれば、RUNX3 の発現上昇と Ara-C 耐性の獲得は AML における本来の Ara-C 抵抗性の機序とは独立な現象としても説明出来るのではないか？
- 8) 消化器がんにおいては RUNX3 はがん抑制遺伝子として捉えられているようであるが、AML での RUNX3 の機能は異なるのか？
- 9) RUNX3 は heterodimer の転写因子と思われるがもう一方の subunit の発現量も同時に上昇しているか？
- 10) ヘテロダーマーの相手側の CBF の異常病態と発現レベル変化の関係は？
- 11) 診断マーカーおよび分子標的治療のターゲットとして具体的な活用法は？

これらの質問に対して、申請者は自らの研究成果と文献的考察を踏まえ、詳細かつ的確な答弁を行うことができた。さらに、質疑応答を通じて、自身の研究の限界と今後の研究課題について十分に理解しているとともに、関連医学領域に関する幅広い知識と考察力も備わっていることがうかがわれ、今後の研究発展が大いに期待できると判断された。

以上の結果、本論文は学位論文として十分な内容を有するものと審査委員全員の一致で判定された。したがって、申請者 Damdinsuren Anar は東海大学博士（医学）の学位を授与されるに値すると判断した。

論文審査委員

主査	博士（医学）	川田 浩志	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	理学博士	木村 穰	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	宮地 勇人	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	博士（医学）	小林 広幸	医学部教授	（医学研究科先端医科学専攻）
委員	医学博士	矢部 普正	医学部准教授	（医学研究科先端医科学専攻）