



JmjC-domain containing histone demethylase 1B-mediated p15Ink4b suppression promotes the proliferation of leukemic progenitor cells through modulation of cell cycle progression in acute myeloid leukemia

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-12-17 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 譚, 琳 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2773

博士(医学) 譚 琳

論文題目

JmjC-domain containing histone demethylase 1B-mediated p15^{Ink4b} suppression promotes the proliferation of leukemic progenitor cells through modulation of cell cycle progression in acute myeloid leukemia

(JmjCドメインを含むヒストンデメチラーゼ 1B を介した p15^{Ink4b} の抑制は、急性骨髄性白血病において細胞周期進行の調節を介して、白血病前駆細胞の増殖を促進する)

論文の内容の要旨

[はじめに]

ヒストンデメチラーゼ 1B (JmjC-domain containing histone demethylase1B: JHDM1B) は転写因子 F ボックス蛋白ファミリーに属し、ヒストンのリジン残基を脱メチル化し、癌抑制遺伝子 p15^{Ink4b} の発現を抑制することにより、マウス線維芽細胞や急性骨髄性白血病細胞の細胞増殖を促進することが報告されている。p15^{Ink4b} は p16^{Ink4a} と p14^{Arf} とともに細胞周期制御因子として機能し、癌抑制遺伝子として働いているため、これらの蛋白質の制御破綻が癌細胞の増殖促進する一因となっている。JHDM1B が p15^{Ink4b} の発現を抑制することにより白血病細胞の増殖を促進させることが報告されているが、急性骨髄性白血病(AML)細胞増殖において JHDM1B が p15^{Ink4b} の発現をどのように制御しているかは不明であった。本研究においては、JHDM1B の発現が白血病細胞の増殖をどのような機序で制御しているかを明らかにすることを目的とした。

[材料ならびに方法]

ヒト AML 細胞株(KG-1、Kasumi-1、U937、YRK2 細胞)および AML 患者由来の AML 細胞(合計症例数 133 例; FAB 分類: M1(n=22)、M2(n=57)、M4(n=34)、M5(n=20))及び、健常人由来の造血細胞を患者の同意と倫理委員会の承認を得た上で用いた。AML 由来と健常人由来の白血病前駆/幹細胞と正常造血前駆/幹細胞はアルデヒドデヒドロゲナーゼ(aldehyde dehydrogenase: ALDH)活性の高い分画(ALDH^{hi})から CD34 陽性分画の細胞(ALDH^{hi}/CD34⁺)を蛍光活性化細胞収集(FACS)を用いて分離採取した。JHDM1B の遺伝子及び蛋白質発現は PCR、半定量的 PCR 及び Western blot 法にて解析した。RNA 干渉による JHDM1B の遺伝子発現抑制が細胞周期に及ぼす影響をプロピジウムイオダイド染色と細胞周期関連蛋白質(p27^{Kip1}、p21^{Cip1}、p14^{Arf}、p18^{Ink4c}、p16^{Ink4a}、p15^{Ink4b})、p15^{Ink4b} 遺伝子発現をそれぞれ flow cytometry、Western blot 法および半定量的 PCR 法にて解析した。白血病患者由来の白血病前駆/幹細胞(ALDH^{hi}/CD34⁺)における JHDM1B 遺伝子発現を半定量的 PCR 法にて評価し、AML(M2; #14)患者由来 ALDH^{hi}/CD34⁺ 細胞を使って、JHDM1B 蛋白質と p15^{Ink4b} のプロモーター領域とのクロマチン免疫沈降反応を用いて、直接的な転写調節を評価した。また、白血病由来 ALDH^{hi}/CD34⁺ 細胞を用いて、RNA 干渉による JHDM1B 発現抑制が p15^{Ink4b} 発現に与える影響と細胞増殖への影響を Western blot 法と colony assay にて評価した。

[結果]

AML 細胞株(KG-1、Kasumi-1、U937、YRK2 細胞)及び急性骨髄性白血病患者由来の ALDH^{hi}/CD34⁺ で、JHDM1B 遺伝子は正常 ALDH^{hi}/CD34⁺ 細胞よりも著しく高発現していた。RNA 干渉を用いた JHDM1B 発現抑制は G1 期細胞周期停止、p15^{Ink4b} 遺伝子・蛋白質の発現増加を介して正常 ALDH^{hi}/CD34⁺ 細胞と比較して、AML 細胞(U937 と KG-1 細胞)の増殖を抑制した。RNA 干渉による JHDM1B 発現抑制は、p21^{Cip1}、p14^{Arf} と p15^{Ink4b} 蛋白質の発現が増加し、特に p15^{Ink4b} 蛋白質の発現誘導が著明であった。一方、p27^{Kip1}、p18^{Ink4c} と p16^{Ink4a} 蛋白質の発現には影響を与えなかった。また、JHDM1B 遺伝子は AML 133 症例すべてにおいて過剰発現しており、正常 ALDH^{hi}/CD34⁺ における JHDM1B 遺伝子発現と比較して 1.57-1.87 倍高かった。さらに、JHDM1B 蛋白質も正常 ALDH^{hi}/CD34⁺ 細胞と比べて、AML 由来 ALDH^{hi}/CD34⁺ 細胞で強く発現していた。さらに、p15^{Ink4b} 遺伝子のプロモーター領域に対するクロマチン免疫沈降反応により、JHDM1B が直接プロモーター領域に結合していることが示され、RNA 干渉による JHDM1B 発現抑制が H3K36 の脱メチル化を阻害することが確認された。また、RNA 干渉による JHDM1B 発現抑制は p15^{Ink4b} 蛋白質の発現誘導を介して、白血病由来 ALDH^{hi}/CD34⁺ 細胞のコロニー形成を有意に抑制することが示された。

[考察]

白血病前駆/幹細胞において、転写因子 JHDM1B は正常造血前駆/幹細胞と比べて過剰発現しており、その転写産物である p15^{Ink4b} 遺伝子のプロモーター領域での脱メチル化を促進し、p15^{Ink4b} の転写を直接抑制し、癌細胞増殖に関与していることが示された。

[結論]

JHDM1B の発現抑制が白血病前駆/幹細胞の増殖抑制効果をもたらすことから、JHDM1B が白血病治療における分子標的になりうる可能性が示唆された。