

令和 7 年 6 月 4 日現在

機関番号：32692

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2022 ~ 2024

課題番号：22K07433

研究課題名 (和文) 白血病細胞の増殖に関する偽遺伝子の機能解明と新規病態検査法の開発

研究課題名 (英文) Functional Analysis of Pseudogenes in Leukemia Proliferation and Novel Diagnostic Development

研究代表者

奥橋 佑基 (Okuhashi, Yuki)

東京工科大学・医療保健学部・講師

研究者番号：90734715

交付決定額 (研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000 円

研究成果の概要 (和文)：本研究は、偽遺伝子PTENP1が細胞周期や増殖制御に関する分子機序を解明した。PTENP1ノックダウンによりCyclin D1やCDK2、NotchやmTORなどのシグナル関連タンパクに変化が生じ、細胞種ごとの異なる作用が示唆された。また、幹細胞の分化・増殖に関するシグナル伝達系への関与が明らかとなり、PTENP1が新たな腫瘍マーカーや治療標的となる可能性が示された。これらの成果はがんゲノム医療や分子生物学的検査法の進展に貢献し、白血病治療の個別化を推進する重要な基盤を提供するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

偽遺伝子PTENP1が白血病細胞で機能的役割を担うことを解明した本研究は、細胞周期や増殖制御の分子機序を明らかにし、シグナル伝達系との関連性を示したものである。これにより、PTENP1が新たな腫瘍マーカーや治療標的として応用可能であることが示唆された。本研究成果は白血病細胞種ごとの異なる分子機序を示す知見がゲノム医療の進展に寄与するものであり、社会的には個別化医療や病態検査法の開発を通じて、患者ごとに最適化された治療の実現が期待される。今後は、これらの研究成果を学会発表や論文投稿を通じて発信し、国内外の研究者との情報共有と議論を深めることで、さらなる研究の発展と臨床応用への展開を目指す。

研究成果の概要 (英文)：This research revealed the functional role of the pseudogene PTENP1 in regulating cell cycles and proliferation in leukemia cells. Knockdown experiments showed changes in Cyclin D1, CDK2, and proteins related to Notch, mTOR, Hedgehog, and Wnt signaling, with cell-type-specific differences observed. Jurkat cells exhibited increased S-phase proportions, while KOPT-K1 showed opposite effects, suggesting PTENP1's cell-specific regulatory role. Its involvement in pathways linked to stem cell differentiation and proliferation highlights PTENP1 potential as a tumor marker or therapeutic target. By analyzing PTENP1 expression and its impact on leukemia cell growth, the study provided insights into its molecular mechanisms. These findings lay a foundation for advancing cancer genome medicine and developing diagnostic methods.

研究分野：血液学

キーワード：白血病 偽遺伝子 PTENP1 シグナル伝達系 ゲノム医療

1. 研究開始当初の背景

白血病は、造血幹細胞が腫瘍化し、異常な白血病細胞が無制限に増殖する疾患であり、その分子メカニズムは未解明な部分が多い。近年、白血病の患者数と死亡数は増加傾向にある。研究代表者は、Notch シグナル阻害剤が白血病細胞に対して増殖抑制効果を示す一方で、一部の細胞では逆に増殖を促進することを発見した。特に、がん抑制遺伝子 *PTEN* が欠損している細胞株でこの現象が見られ、*PTEN* の偽遺伝子である *PTENP1* が白血病細胞の増殖に関与している可能性が示唆された。偽遺伝子は従来機能を持たないとされてきたが、近年では発がんに関与する新たな役割が注目されている。

2. 研究の目的

本研究では、白血病細胞の増殖を調節する新たな細胞増殖メカニズムを解明し、偽遺伝子 *PTENP1* が獲得している生物学的役割を明らかにすることを目的とする。これにより、これまであまり注目されてこなかった偽遺伝子に対する研究が推進され、新たな分子標的治療への応用や分子生物学的検査法の開発が期待される。

3. 研究の方法

(1) 材料

本研究では、急性骨髓性白血病 (AML) (4種)、急性Tリンパ芽球性白血病 (T-ALL) (3種)、Bリンパ腫 (2種)、慢性骨髓性白血病 (1種) の計10種類の白血病細胞株を使用する。siRNA およびその導入に使用する Neon Transfection System (Life Technologies 社製)、定量 RT-PCR 用プライマー、イムノプロット用抗体、細胞周期解析用の BrdU FLOW KIT (BD Biosciences) などの試薬を購入して使用した。

(2) siRNA 導入効率の検討

PTENP1 に対する siRNA (siPTENP1) をエレクトロポレーション法で細胞に導入し、以下の3条件で液体培養を行った。

未処理細胞、Control siRNA 導入細胞、siPTENP1 導入細胞。

その後、RNA を抽出して cDNA を合成し、定量 RT-PCR 法により *PTENP1* の mRNA 発現量を測定した。また、蛍光抗体細胞染色法により、ターゲット mRNA のサイレンシング効果を確認した。

(3) siRNA による細胞増殖への効果の検討

siRNA による遺伝子ノックダウンが確認された細胞に対して、WST 法を用いて細胞増殖の変化を評価した。さらに、メチルセルロースを用いたコロニーアッセイ法により、白血病幹細胞の自己複製能への影響を調べた。

(4) siRNA による遺伝子発現量の変化解析

同様の条件で培養した細胞から RNA を抽出し、Notch、Wnt、Hedgehog、mTOR などのシグナル経路関連遺伝子の発現量を定量 RT-PCR で解析した。加えて、*BCL-XL*、*CyclinD1*、*MYC*、*GATA-1* など、細胞の分化や増殖に関与する遺伝子の発現変化も解析した。

(5) siRNA によるタンパク発現の検討

mRNA 発現量に変化が認められた遺伝子については、それに対応する抗体を用いてイムノプロット法を行い、タンパク質の発現や活性化の変化を調べた。

(6) siRNA による細胞周期解析

PI/BrdU 染色を施した細胞をフローサイトメトリーで解析し、細胞周期、特に S 期の進行に対する影響を評価した。

4. 研究成果

(1) 細胞増殖への影響

本研究により、偽遺伝子 *PTENP1* のノックダウンが白血病細胞の細胞周期に影響を与え、細胞増殖を制御している可能性が極めて高いことが明らかとなった。これは、従来「機能を持たない」とされてきた偽遺伝子に対する通説を覆す新たな知見である。特に、3種の急性骨髓性白血病 (AML) 細胞株のうち1種では、*PTENP1* のノックダウンによって細胞増殖が有意に抑制された。この結果は、白血病細胞における *PTENP1* の機能が細胞株ごとに異なることを示しており、個別化医療の重要性を裏付けるものである。すなわち、*PTENP1* を標的とした医薬品の効果や副作用を投薬前に予測するコンパニオン診断や、がんクリニカルシーケンス検査への応用が期待される。

(2) 細胞周期への効果

フローサイトメーターを用いて siPTENP1 導入前後の細胞周期を解析した結果を示す (図1)。T-ALL 細胞株 Jurkat において *PTENP1* ノックダウン後、G0/G1 期の細胞割合が約 14% 減少し、S 期以降の細胞割合が増加することが確認された。一方、同じ T-ALL 細胞株である KOPT-K1 では、siPTENP1 導入前後で細胞周期に大きな変化は見られなかった。これらの結果から、*PTENP1* は一

部の白血病細胞において G1 期から S 期への移行を促進する役割を担っている可能性が示唆された。また、*PTENP1* が Hedgehog や Notch、mTOR といった細胞周期制御に関するシグナル経路と連携して機能している可能性も考えられる。

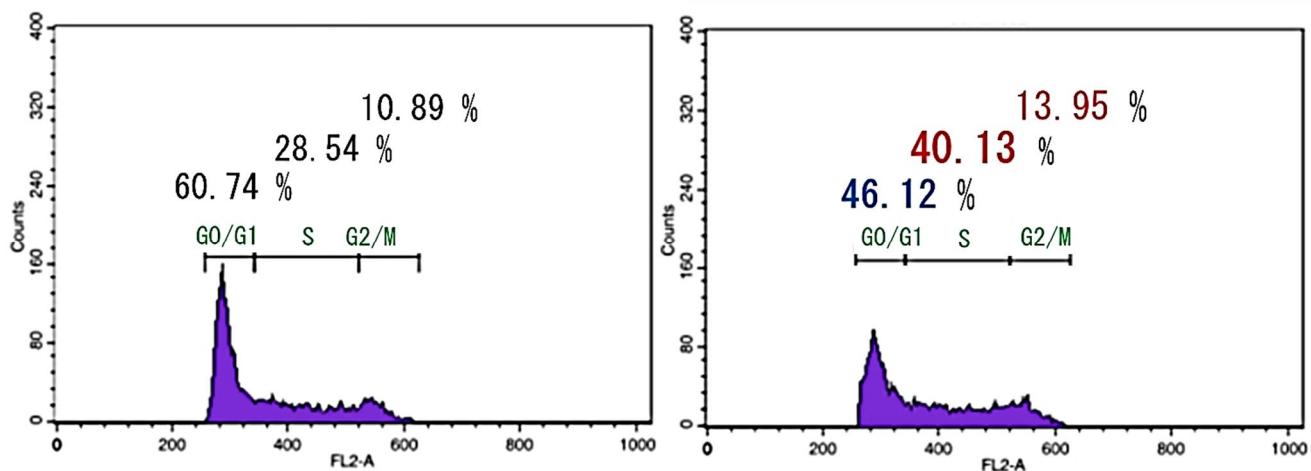


図 1. siPTENP1 による細胞周期の変化 (Jurkat)
PTENP1 ノックダウン前 (左) PTENP1 ノックダウン後 (右)

(3) 分子機序の解明

PTENP1 のノックダウン後、Cyclin D1 や CDK2 などの細胞周期関連タンパク質、ならびに Notch、mTOR、Hedgehog、Wnt といったシグナル経路に関わるタンパク質の発現に変化が認められた (図 2)。この結果から、*PTENP1* が幹細胞の分化や増殖に関与するシグナル伝達経路に関わっていることも明らかとなり、将来的に *PTENP1* が白血病の新規バイオマーカーや治療標的としての応用される可能性が期待される。今後はより詳細な分子メカニズムの解明を進めるとともに、臨床応用に向けた検証研究を推進する必要がある。

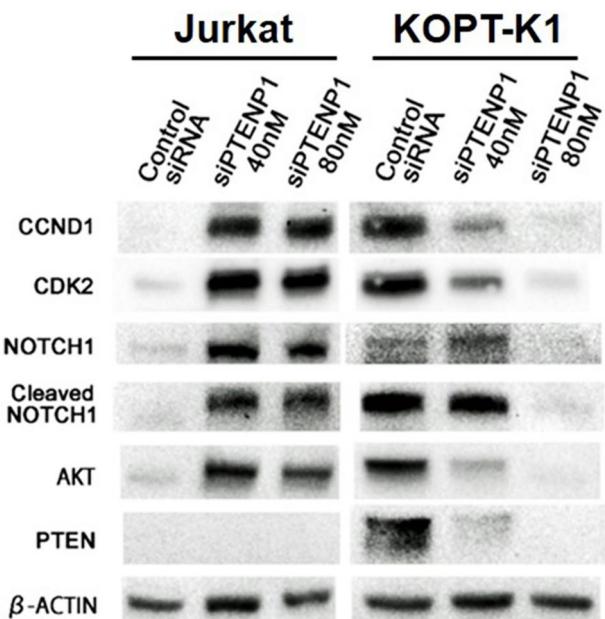


図 2. siPTENP1 によるタンパク発現量の変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

奥橋研究室HP

<https://yukiskywalker21.wixsite.com/my-site>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関